SÜSSWASSERBLAUALGEN

(Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae)

ENTWICKLUNG, VORKOMMEN, PHARMAKOLOGIE UND TOXIZITÄT

GEORG KOVERMANN

1988

Disbui. München
1988

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Institut für Zoologie und Hydrobiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstände: Prof. Dr. M. Ruf und Prof. Dr. W. Ahne
Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. M. Ruf

Süßwasserblaualgen
(Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae
Entwicklung, Vorkommen, Pharmakologie und Toxizität

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Georg Kovermann
aus
Rottach-Egern

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. M. Ruf

Korreferent: Prof. Dr. W. Rössner

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

Meiner Frau

und

meinen Kindern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555215_0001

Inhaltsverzeichnis:

		Seite
I.	Einleitung	1
1.	Entwicklung und Vorkommen toxischer Cyanophyceen	2
2.	Gewinnung und Isolierung von Süßwasser-Blaualgentoxinen	10
3.	Microcystis aeruginosa	11
3.1.	Voraussetzungen für ihr massives Auftreten	11
3.2.	Lysis der Zellen und Austritt des Toxins ins Wasser	18
3.3.	Physikalisch-chemische Eigenschaften des Toxins	20
3.4.	Strukturanalysen	21
4.	Methoden zur Toxizitätsbestimmung von Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae	23
5.	Auswirkungen der Toxizität von Microcystis aeruginosa	28
6.	Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae	52
6.1.	Voraussetzungen für ihr massives Auftreten	52
6.2.	Physikalisch-chemische Eigenschaften des Toxins von Anabaena flos-aquae (Anatoxin)	53
6.3.	Strukturanalysen und Biosynthese von Anatoxin-a	54

Seite

6.4. Pharmakologie und Toxizität der Anatoxine 55

6.5. Physikalisch-chemische Eigenschaften der Toxine von Aphanizomenon flos-aquae (Aphantoxine) 66

6.6. Strukturanalysen der Aphantoxine 66

6.7. Pharmakologie und Toxizität der Aphantoxine 67

7. Toxizität von Blaualgentoxinen (Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae) für den Menschen 70

8. Kontrolle und Verhütung gegen zu starke Vermehrung toxischer Süßwasser-blaualgen 71

II. Diskussion 73

III. Zusammenfassung 86

IV. Summary 88

V. Literaturverzeichnis 90

Lebenslauf

I. Einleitung

Blaualgentoxine der Spezies Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae führen in vielen Teilen der Erde zu Intoxikationen und Massensterben verschiedener Farmtiere. Vor allem in kleineren Seen und Teichen, die mit organischen Abwässern und Nährsalzen, wie Phosphaten, angereichert werden, können sich diese Blaualgen stark vermehren. Bei einer derartigen Massenentwicklung bildet sich an der Wasseroberfläche ein dichter Algenrasen, der durch Wind bis zu einer 10 cm hohen Schicht aufgetrieben werden kann. Tiere, die bei der Wasseraufnahme diese toxischen Algen aufnehmen, erkranken oder sterben innerhalb kurzer Zeit. Vor allem in den südafrikanischen und skandinavischen Ländern stellen diese Algen große wirtschaftliche und landwirtschaftliche Probleme dar und bedürfen genauerer Erkenntnisse, um sie rechtzeitig erkennen und sinnvoll bekämpfen zu können. Über die Wirkungsweise dieser Toxine ist zur Zeit nur wenig bekannt, so daß eine gezielte Therapie nicht anwendbar ist. Um genauere Kenntnisse dieser Punkte und über das plötzliche massenhafte Auftreten sowie durch Intoxikationen verursachte pathologisch-histologische Veränderungen zu erhalten, wurde die Literatur im Hinblick auf diese Problemstellung analysiert.

1. Entwicklung und Vorkommen toxischer Cyanophyceen

Toxische Cynaophyceen entwickeln sich in Gewässern mit hohen Nährstoffgehalten bevorzugt im Sommer und Frühherbst (S k u l b e r g et al., 1984). Vor allem hohe Nitrat- und Phosphatkonzentrationen begünstigen das Wachstum und führen schnell zu Massenentwicklungen. Begünstigt wird der hohe Nährstoffgehalt durch städtische Abwässer und landwirtschaftliche Düngung (C a r m i c h a e l et al., 1985; T u p i k und L o s , 1979; T a k a m u r a et al., 1987). Bei starker Massenentfaltung von Blaualgen in kleinen Seen, Teichen und anderen stehenden Gewässern verfärbt sich das Wasser blau-grün, so daß man von einer "Algenblüte" spricht (A s t r a c h a n und A r c h e r , 1981; K r e m e r , 1978, 1981; C o l l i n s , 1978).

Eine Vielzahl von Blaualgen enthält Gasvakuolen, die es ihnen ermöglichen, ihre Auftriebskraft in Anpassung der jeweiligen Lichtintensität zu regulieren. Bei niedriger Lichtintensität erhalten sie einen Auftrieb und gelangen an die Wasseroberfläche, während sie bei hoher Lichtintensität absinken (W a l s b y , 1972, 1975). Dieser durch Gasvakuolen bedingte Auftrieb ist die Ursache für das Entstehen einer Algenblüte mit Massenansammlung von toxischen Algenzellen an der Wasseroberfläche und gleichzeitig Voraussetzung dafür, daß bei Tieren, die von diesen mit toxischem Algenmaterial angereichertem Wasser trinken, Vergiftungen mit Todesfällen auftreten (L e h m a n n , 1978). Vor allem die sehr toxischen Stämme Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae reichern sich an windstillen Ta-

gen als bis zu 10 cm dicke Algenwatten an der Wasseroberfläche an. Für dieses Verhalten, sich in unterschiedlichen Wasserschichten aufzuhalten, werden verschiedene Mechanismen verantwortlich gemacht: Kollabieren der Gasvakuolen durch Ansteigen des Turgordruckes, relative Abnahme des Gehaltes an Gasvakuolen durch das Zellwachstum, die Aufnahme von Zellballast (Reynolds, 1973; Oliver et al., 1985; Kromkamp und Mur, 1984; Konopka et al., 1987a, 1987b). Bei Untersuchungen an Zellen von Microcystis aeruginosa konnte gezeigt werden, daß die Membram der Gasvakuolen zu stabil ist, um durch geringe Erhöhung des Turgordruckes zerstört zu werden. Vielmehr kann man feststellen, daß durch Veränderung des intrazellenlären Kohlenhydratanteils der Zelle die Auftriebskraft reguliert wird (Kromkamp und Mur, 1984; Kromkamp et al., 1986). Werden jedoch Microcystis aeruginosa Zellen durch die herbstliche Umwälzung eines Gewässers in sehr tiefe Wasserschichten (Hypolimnion) zurückgedrängt, so ist der hydrostatische Druck so groß, daß die Gasvakuolen platzen (Reynolds, 1984). Die Zellen sinken so auf den Grund des Gewässers und überwintern dort (s. Fig. 1):

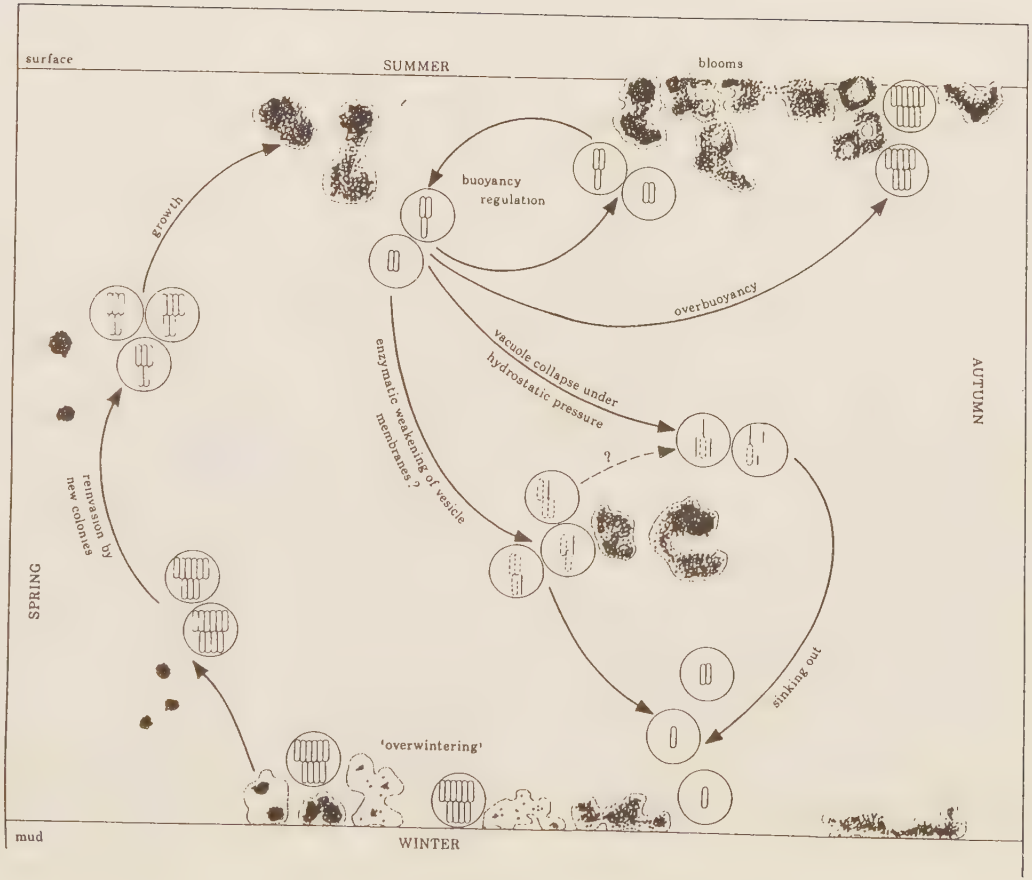


Fig. 1 aus Reynolds et al., 1981
Jahreszeitlicher Zyklus von Microcystis aeruginosa

Auch geht Microcystis aeruginosa mit kolloidalen Ausfällungsprodukten, die dichter als Wasser sind, eine Aggregation ein, um so in tiefere Wasserschichten abzusinken (s. Fig. 2). Es handelt sich bei dieser Aggregation um eine sehr lockere Bindung, die bereits durch Aufwirbeln des Wassers wieder getrennt werden kann. Eine Analyse dieser Ausfällungsprodukte zeigt, daß es sich um ein Kolloid handelt, welches sowohl Eisen als auch eine organische Komponente enthält (O l i v e r et al., 1985).

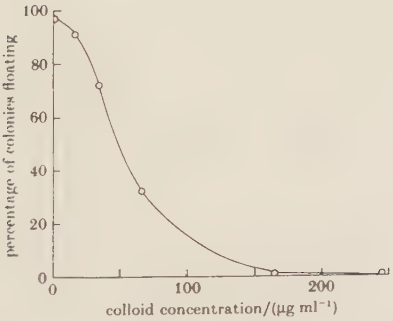


Fig. 2 aus Oliver et al., 1985

Anzahl (%) der Microcystis Kolonien, die 48 Std. nach Hinzufügen von unterschiedlichen Kolloid Konzentrationen (ug/ml) noch in der Wasserphase schweben

Werden Microcystis-Zellen von einem nährstoffreichen in ein nährstoffarmes (destilliertes Wasser) Medium übertragen, so nimmt im Laufe der Zeit die Anzahl der Gasvakuolen ab (s. Fig. 3).

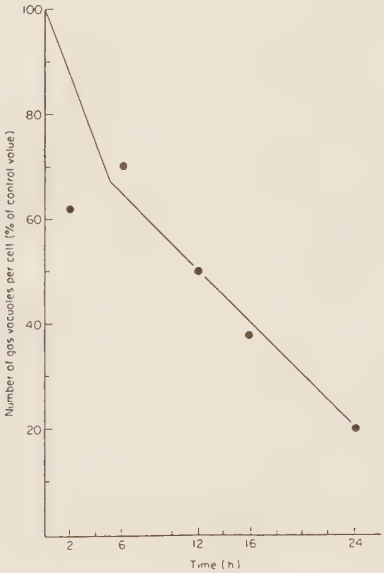


Fig. 3 aus Lehmann und Wiencke, 1980

Veränderung der Anzahl der Gasvakuolen/Zelle nach Übertragen der Microcystis-Zellen in distilliertes Wasser

Dieses Verhalten wird auch bei unter natürlichen Bedingungen lebenden Microcystis-Zellen beobachtet: Sobald die Nährstoffe im Oberflächenwasser verbraucht sind, wird die Anzahl der Gasvakuolen reduziert und die Microcystis-Zelle sinkt ab. Da die Membranen der Gasvakuolen aus verschiedenen Proteinen aufgebaut sind, vermutet man, daß durch Nährstoffmangel bestimmte Proteine nicht mehr synthetisiert werden, so daß die Anzahl der Gasvakuolen abnimmt (L e h m a n n und W i e n c k e , 1980). Elektronenmikroskopische

Untersuchungen zeigen, daß das Membranprotein der Gasvakuolen in ein Reserveprotein umgewandelt wird, das zur Bildung neuer Gasvakuolen verwendet wird. Gasvakuolen werden immer neu angelegt und auch die Vermehrung vollzieht sich durch Neubildung und nicht durch Teilung bereits bestehender Strukturen (Lehmann 1978; Lehmann und Jost, 1971).

Microcystis-Zellen sind ferner in der Lage, durch Akkumulation bestimmter Zellkomponenten (Polymere, Polysaccharide) die Auftriebskraft herabzusetzen, um so in tiefere Wasserschichten abzusinken (Thomas und Walsby, 1985).

Im Gegensatz zu Microcystis aeruginosa besitzen die Membranen der Gasvakuolen von Anabaena flos-aquae eine geringere Festigkeit, so daß sie durch Erhöhung des Turgordruckes bei starker Lichtintensität platzen (Walsby und Booker, 1980; Blaurock und Walsby, 1976). Werden Anabaena flos-aquae Zellen starker Lichtintensität ausgesetzt, so ordnen sich die Gasvakuolen an den Außenwänden der Algenzellen an. Durch diese Anordnung der Gasvakuolen wird der Zelle ein gewisser Schutz gegen ultraviolette Strahlung gewährleistet (Shear und Walsby, 1975). Durch das Platzen der Gasvakuolen kommt es zu einer Erhöhung der Dichte der Algenzelle, so daß diese in tiefere Wasserschichten absinkt (Oliver und Walsby, 1984). Man kennt verschiedene Mutanten von Anabaena flos-aquae, die die Fähigkeit, Gasvakuolen zu bilden, verloren haben. Diese Mutanten bilden oft helikale fadenförmige Gebilde, die gegenüber der geraden Form von Anabaena flos-aquae den Vorteil besitzen, daß sie sich zu einer Art Knäuel zusam-

menlegen können und so zum einen schneller in tiefere Wasserschichten absinken können, zum anderen aber auch durch turbulente Wasserströmungen nicht so schnell zerrissen werden (Booker und Walsby, 1979; Walsby, 1977).

Die in einer etwa 2 cm tiefen Schlammschicht überwinternden Microcystis Kolonien erhöhen ihre photosynthetischen Pigmente, so daß die Photosyntheserate nur geringgradig unter derjenigen liegt, wie sie von Zellen im Oberflächenwasser beobachtet werden (Takamura et al., 1984, 1986). Werden im Winter Microcystis-Zellen aus der Schlammschicht eines Gewässers in ein Labor überführt, so sind diese Zellen fähig, für mehr als vier Monate ihre photosynthetische Aktivität aufrechtzuerhalten (Fallon und Brock, 1981). Dadurch ist gewährleistet, daß Microcystis aeruginosa im Frühjahr des folgenden Jahres plötzlich und zahlreich an der Wasseroberfläche erscheint und so eine besondere Gefahr für Weidevieh besteht (Preston et al., 1980; Carmichael und Gorham, 1981). Auf diese Weise bereiten toxische Cyanophyceen in vielen Ländern der Erde große Probleme und verursachen jedes Jahr Viehsterben, die große wirtschaftliche Verluste mitbringen (Leeuwangh et al., 1983; Henning und Kohl, 1981). Im folgenden werden die Länder aufgeführt, in denen Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae alljährlich massenhaft auftreten:

Kanada
- Alberty
- Saskatchewan
- Ontario
- Manitoba
- Washington

USA
- Nevada
- Montana
- S. Dakota
- N. Dakota
- Ohio
- Pennsylvania
- New York
- New Hampshire
- Florida
- Hawaii (marine)
- Minnesota
- Illinois
- Michigan
- Colorado
- Iowa
- Texas

Europa
- Dänemark
- Großbritannien
- Finnland
- Norwegen
- Polen
- Portugal
- Schweden
- Tschechoslowakei
- West-Deutschland
- Ost-Deutschland
- Niederlande
- Ungarn

UdSSR
- Ukraine

Australien

Indien

Bangladesch

Süd-Afrika

Israel

Japan

Neu-Seeland

Argentinien

Okinawa

(aus Carmichael et al., 1985)

2. Gewinnung und Isolierung von Süßwasser-Blaualgen-toxinen

Durch Winddrift an der Wasseroberfläche konzentrierte Algenwatten werden mit einem Behälter (Eimer usw.) eingesammelt und durch Passage eines Planktonnetzes (Maschenweite 25 um) konzentriert und anschließend gefriergetrocknet (Berg et al., 1987b; Court et al., 1981). Um möglichst viel toxisches Material zu erhalten, ist es sinnvoll Algenmaterial dort einzusammeln, wo Tiersterben durch die Aufnahme toxischer Algen auftritt. Dieses Material wird den höchsten Gehalt an toxischen Zellen enthalten. Es werden zwei Proben genommen: Die eine Probe dient dem direkten Nachweis auf Toxizität an Mäusen, die andere Probe wird zur Gewinnung von Reinmaterial im Labor verwendet, um so die Toxizität (LD_{100}, LD_{50}) zu ermitteln (Carmichael, 1984).

Im Labor werden die geernteten Algen mit Ultraschall behandelt, so daß die Zellwände zerstört werden und das Toxin frei wird. Das so gewonnene Material wird extrahiert, einige Stunden bei niederen Temperaturen gerührt und anschließend zentrifugiert (Carmichael, 1986b; Elleman et al., 1978). Nach Extraktion des Toxins (Dialyse, Zentrifugieren) werden verschiedene chromatographische Verfahren (Silica-Gel, Dünnschicht-Chromatographie, HPLC) angewandt, die das Toxin weiter auftrennen Krishnamurthy et al., 1986; Poon et al., 1987; Toerien et al., 1976; Murthy und Capindale, 1970; Gregson und Lohr, 1983; Wong und Hindin, 1982; Smith und Lewis, 1987; Amann und Jüttner, 1981).

3. Microcystis aeruginosa

3.1. Voraussetzungen für ihr massives Auftreten

Toxische Blüten von Microcystis aeruginosa verursachen in vielen Teilen der Erde Tiersterben und Erkrankungen beim Menschen (M o o r e , 1977). Es ist deshalb von großer Bedeutung, Faktoren, die das Wachstum und die Toxinproduktion begünstigen, rechtzeitig zu erkennen. Im Hartbeesport Dam, Süd-Afrika, bilden sich an windstillen Tagen vor allem in den Monaten Juni bis September dezimeter-dicke Algenwatten von Microcystis aeruginosa an der Wasseroberfläche. Hartbeesport Dam ist ein warmer, gleichmäßig durchmischter, hypertrophischer See. Seine Größe umfaßt etwa 20 km^2 mit einer mittleren Wassertiefe von 9,6 m. Die Windgeschwindigkeit über diesem See ist allgemein sehr langsam. Dieser Wind ist jedoch verantwortlich dafür, daß Microcystis-Zellen in windstillere Gebiete zu einem dichten Algenrasen zusammengetrieben werden, der massiv toxisches Material enthält und für Weidevieh, das diese Wasserquellen als Tränken benutzt, eine große Gefahr darstellt (P e a r l und U s t a c h , 1982; P e a r l et al., 1983). Ein derartiger Algenrasen enthält etwa 100 - 300 mg Chlorophyll/l. Die Anzahl der Microcystis-Zellen in diesem Algenrasen variiert zwischen 0,86 x 10^9 und 1,76 x 10^9 Zellen/ml. Die direkt an der Wasseroberfläche schwimmenden Microcystis-Zellen sind photooxidativen Bedingungen, wie hoher Lichtintensität, O_2Sättigung und CO_2-Mangel ausgesetzt. Sie werden photooxidativ zerstört, was an dem Ausbleichen der Pigmente erkennbar wird.

Die Zellen setzen Phycocyanin frei und färben so die Oberfläche des Algenrasens purpurn blau. Nach Austrocknung dieser Zellen bildet sich eine 1 - 3 mm dicke Schicht, die die darunter liegenden Microcystis-Zellen vor direkter Sonneneinstrahlung schützt und so eine Photooxidation verhindert. Microcystis-Zellen innerhalb dieser Schicht können mehrere Wochen unter aphotischen und anaeroben Bedingungen sowie bei relativ niedrigem pH-Wert überleben (Z o h a r y , 1985). Auch durch die Dichte einer Algenblüte, d.h. durch die Anzahl der Zellen/ml, wird ein schützender und abschattender Effekt erreicht, der vor Photooxidation schützt (E l o f f et al., 1976). Je größer die Zelldichte einer Algenblüte und desto stärker die auf diese Algenblüte einwirkende Lichtintensität ist, umso geringer ist die Zellteilungsrate (s. Fig.4: A-D).

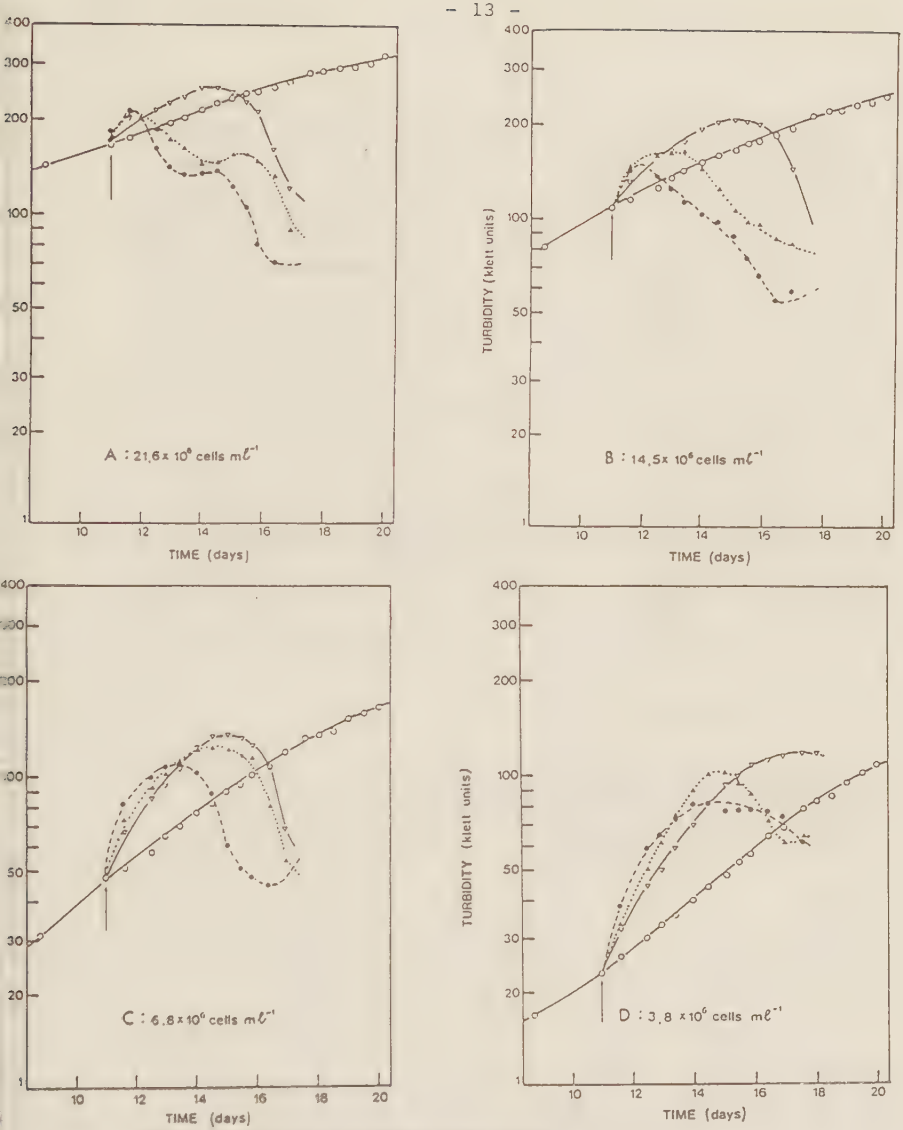


Fig. 4: A-D aus Krüger und Eloff, 1979a

Auswirkungen der Zelldichte und Lichtintensität ($uE/m^2/s$) auf die Zellteilungsrate (Turbidity)

○ = Kontrolle
△ = 20 $uE/m^2/s$
▲ = 29 " " "
● = 39 " " "

Dieses Verhalten ist auf verschiedene Faktoren zurückzuführen: Freiwerden bestimmter Substanzen, Veränderung von pH-Wert, CO_2- oder O_2-Konzentration. Bei hoher Lichtintensität steigt die Photosyntheserate steil an, so daß große Mengen CO_2 verbraucht werden und die Minderung der Teilungsrate der Zellen auch auf einen CO_2-Mangel zurückgeführt werden kann (Krüger und Eloff, 1979a, 1979b).
Eine Erhöhung des Carotinoid-Gehaltes schützt die Microcystis-Zellen vor starker Lichtintensität und so vor Photooxidation (s. Tab. 1). Diese Carotinoid-Gehaltsveränderung ist an dem Farbwechsel der Kolonie von blau-grünem Aussehen bei niedriger Lichtintensität zu gelb-grünem Aussehen bei hoher Lichtintensität zu erkennen (Raps et al., 1983; Kureyshevich, 1979; Zevenboom und Mur 1984).

Tab. 1 aus Raps et al., 1983

Carotinoid-Gehalt von Microcystis aeruginosa bei unterschiedlichen Lichtintensitäten ($uE/m^2/s$)

$uE/m^2/s$	Anzahl der Untersuchungen	Carotinoid-Gehalt/Zelle mol x 10^{-16}
20	4	1,13 +/- 0,25
40	3	1,57 +/- 0,37
72	3	1,73 +/- 0,03
160	4	1,32 +/- 0,04
240	5	1,27 +/- 0,51
565	4	1,72 +/- 0,27

Im Hartbeesport Dam wurde die Lichtpenetration, der Sauerstoffgehalt,. die Temperatur und der pH-Wert in verschiedenen Tiefen des Gewässers zu einem Zeitpunkt gemessen, an dem sich an der Oberfläche dieses Sees eine zentimeter-dicke Microcystis Schicht befand. Die Sauerstoffkonzentration in 1 m Wassertiefe ist um die Hälfte geringer als an der Wasseroberfläche. In 12 m Tiefe ist das Wasser bereits anaerob. Die dichte Microcystisschicht reduziert die Lichtpenetration in 2 m Wassertiefe auf Null (s. Fig. 5).

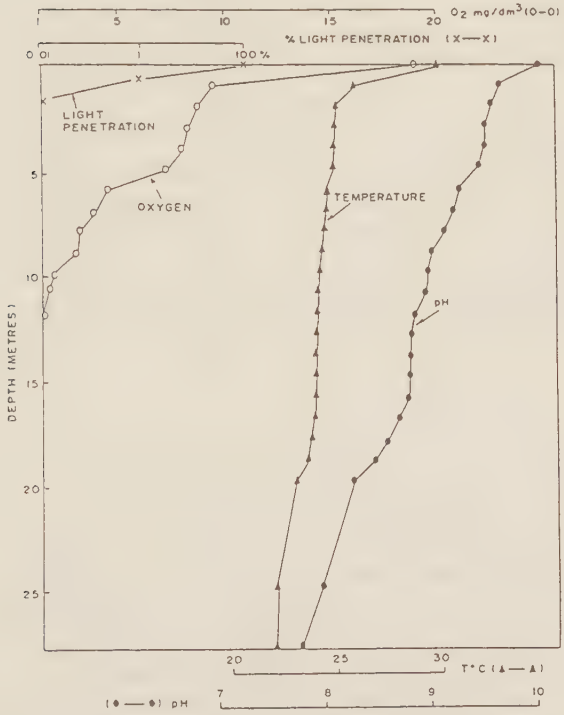


Fig. 5 aus Scott et al., 1981

Veränderung der Lichtpenetration (x-x) und der Sauerstoffkonzentration (O-O) im Hartbeesport Dam, Süd-Afrika, aufgrund einer zentimeter-dicken Microcystis aeurignosa Schicht.

In Fig. 5 ist zu sehen, daß Microcystis aeruginosa bei relativ hohem pH-Wert und O_2-Gehalt an der Wasseroberfläche wächst.
Wird Microcystis aeruginosa hoher Lichtintensität ausgesetzt, so paßt sie sich durch Veränderung der Pigmentzusammensetzung dieser Situation an (s. Fig. 6).

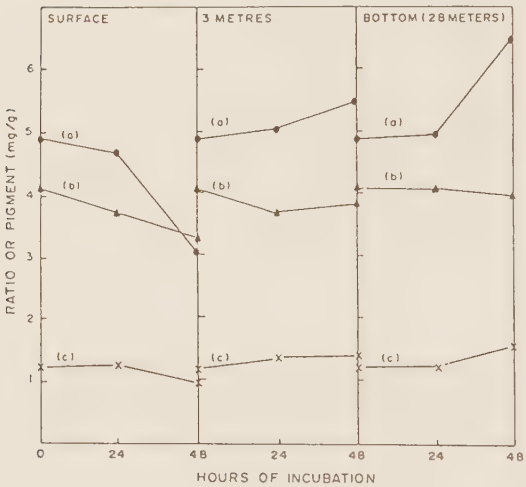


Fig. 6 aus Scott et al., 1981

Veränderung der Pigmentzusammensetzung von Microcystis-Zellen

●——● Chlorophyll-Gehalt; x——x Carotinoid-Gehalt;
▲——▲ Chlorophyll: Carotinoid Anteil

Aus Fig. 6 ist zu sehen, daß der Chlorophyll-Gehalt an der Wasseroberfläche abfällt, während er in einer Wassertiefe von 3 m bzw. am Seegrund (28 m Wassertiefe) im Laufe der Inkubationszeit stetig ansteigt. Der Carotinoid-Gehalt der Zellen verändert sich nicht so stark wie der Chlorophyll-Gehalt (S c o t t et al., 1981).

In Gewässern, die mit Stickstoff und Phosphor angereichert sind, tritt Microcystis aeruginosa bevorzugt auf (Aplin, 1983; Scott, 1974). Nicht-toxische Stämme besitzen eine höhere Affinität zu Phosphat als toxische Stämme. Unter phosphat-limitierenden Bedingungen kann die Alge Phosphat als Reserve speichern. Das Phosphat wird in sphaerische Granula eingelagert und bei Bedarf mobilisiert. Dieses ist ein Grund dafür, daß Microcystis aeruginosa auch unter phosphat-limitierenden Bedingungen in großer Anzahl auftritt und so mehrere Tage überlebt (Eloff, 1981; Barlow et al., 1979; Soltero und Nicholls, 1981).

Auch Stickstoff wird von Microcystis-Zellen in Cyanophycin-Granula gespeichert. Werden Microcystis-Zellen in stickstoff-freien Medien gehalten, so steigt die Anzahl an Cyanophycin-Granula stark an (Eloff, 1981). Durch Freisetzen bestimmter wachstums-limitierender Substanzen werden andere Algenarten von Microcystis verdrängt (Lam und Silvester, 1979).

Um Ursachen und Voraussetzungen einer plötzlich auftretenden Blaualgenblüte genauer erforschen zu können, ist es erforderlich, Blaualgen im Labor zu züchten. Für die Anzucht von Microcystis-Zellen kommen verschiedene Nährmedien zur Anwendung: ASM-1 Medium, BG-11 Medium (Gorham et al., 1964; Stanier et al., 1971).
Große Schwierigkeiten bei der Anzucht von Blaualgen bereiten die Verunreinigungen der Nährmedien, insbesondere die Kontamination mit Bakterien. Aus diesem Grunde ist es erforderlich, bestimmte Verfahren anzu-

wenden, um Nährmedien bakterienfrei zu halten: Behandlung mit Antibiotika, verschiedene Filtrationsverfahren, unterschiedliche Temperaturbehandlung (V a n c e , 1965, 1966; A l l e n und G o r h a m , 1981).

Folgende Parameter sind bekannt, die das Wachstum und die Toxizität von Microcystis aeruginosa beeinflussen: Durch Erhöhung der Lichtintensität sinkt die Wachstumsrate und es kommt zur Lysis der Zellen, während die Toxizität der Zellen steigt (K r ü g e r und E l o f f , 1981; van der W e s t h u i z e n und E l o f f , 1985). Durch Erhöhung der Wassertemperatur (von 18° auf 32° C) steigt die Wachstumsrate von Microystis aeruginosa an, während die Toxizität der Zellen sinkt (W a t a n a b e und O i s h i , 1983, 1985). Bei hohen und relativ niederen pH-Werten (10,5 und 6,5) ist die Toxizität der Microcystis-Zellen am größten (van der W e s t h u i z e n und E l o f f , 1983). Die Aminosäurenzusammensetzung des Toxins wird durch Veränderungen der Temperatur und Lichtintensität nicht beeinflußt (van der W e s t h u i z e n et al., 1986).

3.2. Lysis der Zellen und Austritt des Toxins ins Wasser

Verschiedene Feld- und Labor-Versuche mit Microcystis aeruginosa geben Informationen über die metabolischen Vorgänge dieser Alge. Untersucht man das Freiwerden und den Zerfall von Metaboliten während der Zersetzungsvorgänge dieser Alge, so sind es vor allem algenlysierende Bakterien, die normalerweise in neutralem und alkalischem Wasser mit hohen organischem Gehalt

anzufinden sind, die zur Lysis der Algenzellen von Microcystis aeruginosa beitragen. Vornehmlich handelt es sich um Myxobakterien vom Typ CP-1. Sie leben mit den Algen in eutrophen Gewässern (D a f t et al., 1975). Auch durch Autolyse, Zerstörung durch Zooplankton und andere Mikroben werden die Zellwände der Algen permeabel, so daß lösliche Verbindungen (Toxine) ins Wasser diffundieren (B e r g et al., 1987a).

Beobachtet man den Zerfall von Microcystis-Zellen in einem Zeitraum von 40 Tagen, so sieht man, daß während der Zersetzung und Lysis der Zellen der Anteil an organischem-Kohlenstoff (TOC) und Stickstoff (TOT-N) rapide ansteigt (s. Tab. 2).

Tab. 2 aus Berg et al., 1987a

Chemische Veränderung des Wassers durch Lysis von Microcystis aeruginosa-Zellen in einem Zeitraum von 40 Tagen

Tage	TOT-N mg N/l	TOC mg C/l	NH_4 mg N/l
0	1,5	6,1	-
5	5,8	26,4	5,0
7	6,3	27,7	5,6
9	6,8	27,5	6,5
14	8,3	30,3	7,6
26	37,8	113,0	47,5
34	122,0	346,0	154,0
40	226,0	607,0	254,0

Wie aus Tab. 2 zu sehen ist, sind die Veränderungen während der ersten 14 Tage noch gering, während die Werte anschließend rapide ansteigen. Durch Schwächung der Microcystis-Zellwände werden Proteine verfügbar, so daß sich proteolytische Mikroorganismen vermehren und der Ammonium-Gehalt stark ansteigt.

Intakte Microcystis-Zellen sind in den ersten Tagen sehr toxisch, während sie nach 40 Tagen nur noch als leeres Zellgerüst vorliegen und sich das Toxin frei im Wasser befindet. Diese freien Toxine im Wasser sind für den menschlichen und tierischen Konsum gefährliche Quellen (B e r g et al., 1987a; B o u r k e et al., 1983; B i l l i n g s , 1981).

3.3. Physikalisch-chemische Eigenschaften des Toxins

Nach Aufreinigung und Lyophilisierung des Toxins erhält man ein weißes Pulver, das in saurer Umgebung langsam zerfällt. Es ist in Methanol und Wasser gut löslich (C a r m i c h a e l , 1986b). Bei pH 4 und Raumtemperatur ist das Toxin unstabil. Beim Kochen in neutraler Lösung bleibt es stabil, während es beim Kochen in 1-n-HCl oder 1-n-NaOH zerfällt. In Säure ist es unlöslich. Aktivkohle adsorbiert das Toxin (R u n n e g a r und F a l c o n e r , 1981b; F a l c o n e r et al., 1983c). Erhitzen auf 100° C für eine Stunde reduziert die Toxizität um 50 % (E l o f f et al., 1982).

Ein Toxin von Microcystis aeruginosa, das Hartbeesport-Dam-Toxin (HBP-Tx) genannt wird, da es von einem Algenrasen aus dem Hartbeesport-Dam isoliert wurde, verlor durch oxidativen Zerfall seine Toxizität (Amann und Eloff, 1980; Amann und Jüttner, 1981; Amann, 1982, 1984).

3.4. Strukturanalysen

Louw (1950) war einer der ersten Wissenschaftler, der versuchte, die toxische Eigenschaft von einer 1943 im Vaal-Dam, Süd-Afrika, auftretenden Microcystis-Blüte zu erforschen. Er glaubte, daß es sich bei dem Toxin um ein Alkaloid unbekannter Struktur handeln müsse. Bishop et al. (1959) isolierten ein Toxin von einem Microcystis-Stamm, der 1954 in Ontario, Kanada, auftrat. Sie hielten das Toxin für ein Polypeptid, das aus sieben Aminosäuren mit zehn Resten bestand:
Asparaginsäure (Asp), Glutaminsäure (Glu), Serin (Ser), Valin (Val), Ornithin (Orn), Alanin (Ala), Leucin (Leu). Murthy und Capindale (1970) isolierten vom gleichen Stamm 14 Aminosäuren.

Nach heutigen Kenntnissen geht man von einem Heptapeptid-Toxin mit linearer oder Ring-Struktur aus. Bei der Aufreinigung und Isolierung von vier unterschiedlichen Toxinen einer Microcystis aeruginosa-Blüte, die 1974 in Süd-Afrika auftrat, wurden bei allen vier Toxinen folgende Aminosäuren analysiert:

ß-Methylasparaginsäure, Alanin, Glutaminsäure, Methyldehydroalanin und eine neue ß-Aminosäure : 3-Amino-9-Methoxy-10-Phenyl-2,6,8-Trimethyl-Decy-4,6-Dienoicacid. Nach dem heutigen Kenntnisstand ergibt sich folgende Struktur des Toxins:

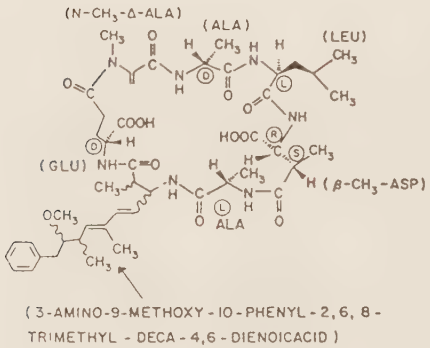


Fig. 7 aus Botes et al., 1986

Das Molekulargewicht des Toxins variiert zwischen 904 bis 1044 Dalton (B o t e s et al., 1984, 1985, 1982a, 1982b, 1982c; B o t e s , 1986; S a n t i k a r n et al., 1983).

4. Methoden zur Toxizitätsbestimmung von Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae

Es gibt verschiedene Verfahren, um die Toxizität von Süßwasserblaualgen zu bestimmen. Die zur Zeit sicherste und häufig angewandte Methode ist der Mäusetoxizitätstest (C á r m i c h a e l et al., 1985):

Zunächst wird eine von Süßwasserblaualgen kontaminierte Wasserprobe in einem sauberen Behälter entnommen und diese im Labor direkt an Mäusen auf ihre Toxizität untersucht. Die Probe wird grob gefiltert, um Verunreinigungen zu beseitigen. Anschließend werden 0,5 ml dieser Probe intraperitoneal (i.p.) in männliche, weiße Labormäuse (ICR-Schweizer-Stamm) injiziert. Befinden sich Blaualgen-Toxine mit neurotoxischer Wirkung (Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae) in der Probe, so tritt der Tod innerhalb von 2 - 20 Minuten mit den für Neurotoxine typischen Anzeichen wie Muskelzittern (nach ca. 1 - 2 Minuten), Muskelfaszikulationen (nach ca. 2 - 4 Minuten), Konvulsionen (nach ca. 3 - 5 Minuten) und Atemstillstand (nach ca. 5 - 20 Minuten) ein (C a r m i c h a e l et al., 1985; C a r m i c h a e l , 1982a, 1982b, 1986c, 1986d).
Handelt es sich um Blaualgen-Toxine mit hepatotoxischen Eigenschaften (Microcystis aeruginosa), so sind folgende Symptome nach i.p. Injektion der Mäuse pathognomonisch: Der Tod tritt innerhalb von 1 - 3 Stunden ein und bei der Sektion erkennt man: Stauungsleber; das Lebergewicht ist um das 2- bis 3-fache erhöht (im Vergleich zu Kontrolltieren); zentrilobuläre, hämorr-

hagische Nekrosen der Leberlappen (C a r m i c h a e l et al., 1985; C a r m i c h a e l , 1986b; C a r m i c h a e l und M a h m o o d , 1984). All diese Symptome sprechen für das Vorliegen eines Hepatotoxins von Microcystis aeruginosa (C a r m i c h a e l, 1986a).

Bei diesen Untersuchungen wird eine Überdosis (0,5 ml) benutzt, um auch eine möglichst schwach konzentrierte Algenblüte und Zusammensetzungen aus nicht-toxischen und toxischen Stämmen zu erfassen (C a r m i c h a e l , 1981).

Mit Hilfe eines Hämagglutination-Tests versucht man Toxine von Anabaena flos-aquae und Microcystis aeruginosa nachzuweisen (C a r m i c h a e l und B e n t, 1981). Der Test beruht darauf, daß einige Stämme dieser Algen die Fähigkeit besitzen, Erythrozyten von Mäusen, Ratten und Menschen zu agglutinieren. Mit dieser Methode kann man Toxine in Proben von natürlich gewonnenem Algenmaterial, Laborkulturen und Toxin-Extrakten bestimmen.

Durchführung:

Lyophilisierte Algenzellen werden in einer 0,9 % NaCl-Lösung gewaschen und anschließend zentrifugiert. Mischen des zell-freien Überstandes mit gleichen Volumina von ebenfalls mit 0,9 %iger NaCl gewaschenen Erythrozyten in Mikrotiterplatten. 4 bis 5 Stunden stehen lassen und auswerten.

Auswertung (s. Tab. 3):

Ist nach dieser Zeit eine Agglutination zu erkennen, so deutet dieses auf die Anwesenheit toxischer Stämme von Anabaena flos-aquae oder Microcystis aeruginosa hin. Nicht-toxische Stämme, die zuvor an Mäusen getestet wurden, zeigen keine Agglutination (C a r m i c h a e l und B e n t , 1981).

Tab. 3 aus Carmichael und Bent, 1981

Hämagglutinationsergebnisse

M. aeruginosa (Stamm)	Hämagglutination der Erythrozyten (mg Algentrockenmasse/ml)				Mäuse-Toxizität (mg lyophilisierter Zellen/kg)
	10	5	2,5	1	
NRC-1-SS-17	++	++	++	--	50
A-143	++	++	--	--	100
A-207	++	++	++	+-	500
A-272	++	++	--	--	100
S-33	++	++	+-	--	100
S-61	++	+-	--	--	100
Anabaena flos-aquae (Stamm)					
NRC-44-1	--	--	--	--	-
M-20	--	--	--	--	-
NRC-525	--	--	--	--	-
S-UTH-1	--	--	--	--	-
A-52	--	--	--	--	-
S-23	--	--	--	--	-
A-113	++	++	+-	--	100
A-120	++	++	+-	--	100
A-128	++	+-	+-	--	50
M-13	++	++	++	--	50
M-5	++	++	++	--	50
F-1	++	++	+-	--	300

++ = 100 % Agglutination nach 4 - 5 Std.
+- = 50 % " " " "
-- = keine "

Eine weitere Methode zur Bestimmung der Toxizität von Microcystis aeruginosa basiert auf cytopathischem Effekt dieser Toxine auf verschiedene Zellkulturen (Aune und Berg, 1986; Berg und Aune, 1987). Werden präparierte Hepatozyten von Ratten dem Toxin von Microcystis aeruginosa ausgesetzt, so unterziehen sich diese verschiedenen morphologischen Veränderungen. Der Grad des Zellschadens der Hepatozyten ist inkubationszeit-abhängig. So lassen sich bei Hepa-

tozyten, die einer Menge von 1,25 mg gefriergetrockneter Microcystis-Algen/ml ausgesetzt werden, unter dem Mikroskop folgende morphologische Veränderungen registrieren: Nach einer Stunde Inkubationszeit erscheinen die Zellen durchsichtig und mit großen Blasen auf der Oberfläche. Einige Zellen lassen sich mit Trypanblau anfärben, welches auf die Zerstörung der Plasmamembran hinweist.
Nach drei Stunden Inkubationszeit erscheinen alle Hepatozyten zerstört, irregulär geformt, zum Teil leer und mit Trypan-blau angefärbt (A u n e und B e r g, 1986).

Verwendet man toxisches Algenmaterial in Konzentrationen von 0,625 - 5 mg Algentrockenmasse/ml und inkubiert Hepatozyten für drei Stunden mit diesen unterschiedlichen Konzentrationen, so sind folgende Veränderungen der Hepatozyten bei der mikroskopischen Untersuchung zu erkennen: Bereits bei einer Dosis von 0,625 mg Algentrockenmasse/ml sind die meisten Hepatozyten zerstört, irregulär geformt und mit Trypan-blau angefärbt. Bei der höchsten Konzentration von 5 mg/ml sind die meisten Zellen völlig aufgelöst und haben ihre Inhaltsstoffe ins Inkubationsmedium freigesetzt (A u n e und B e r g , 1986; B e r g und A u n e, 1987).

Andere Zellkulturen, die zur Bestimmung der Toxizität von Blaualgen verwendet werden, sind Fibroblasten von Menschen, Rattenembryos und transplantierte Zellkulturen, die in der virologischen Untersuchung Anwendung finden (K i r p e n k o und K i r p e n k o , 1980, 1986; K i r p e n k o , 1987).

In immunologischen Studien mit dem Toxin von Microcystis aeruginosa können monoklonale Antikörper gegen dieses Toxin hergestellt werden. Mit diesen monoklonalen Antikörpern kann man Toxine von Microcystis aeruginosa nachweisen (ELISA) (K f i r et al., 1986).

Zur Bestimmung der Toxizität von Aphanizomenon flos-aquae wird primär der Mäusetoxizitätstest eingesetzt (C a r m i c h a e l , 1986c).
Eine "in vitro" Methode untersucht die Lebensfähigkeit von Leukozyten, nachdem diese dem Toxin von Aphanizomenon flos-aquae ausgesetzt werden (B a r t o n et al., 1980): Trennt man weiße menschliche Blutkörperchen nach Monozyten, Lymphozyten und Neutrophile auf, so sterben 60 % der Monozyten ab, wenn man sie für 120 Minuten mit 0,2 mg Trockensubstanz von Aphanizomenon flos-aquae inkubiert. Neutrophile sterben während dieser Inkubationszeit zu 20 % ab, während Lymphozyten nur geringgradig affektiert werden (s. Fig. 8).

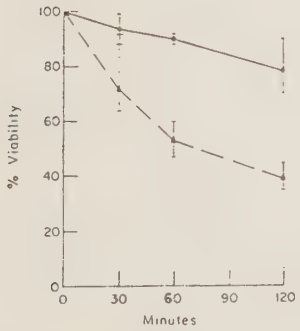


Fig. 8 aus Barton et al., 1980

Lebensfähigkeit von Monozyten (▲) und Neutrophile (●) nach Inkubation mit 0,2 mg Algentrockenmasse von Aphanizomenon flos-aquae für 120 Minuten.

Monozyten reagieren also sehr empfindlich auf das Toxin von Aphanizomenon flos-aquae, so daß sie zur Bestimmung der Toxizität herangezogen werden können (B a r t o n et al., 1980).

5. Auswirkungen der Toxizität von Microcystis aeruginosa

Das Microcystis-Toxin wird durch Zerstörung bzw. Lysis der Zelle freigesetzt. Diese Lysis der Zelle kann auf unterschiedliche Weise eintreten: Durch den Transport von Wasser durch Rohrleitungen, altersbedingt, durch Mikroorganismen oder durch Aufnahme von Trinkwasser und anschließende Zerstörung durch die Magensäure (B e r g et al., 1986, 1987a, 1987b). Nach Aufnahme dieser Toxine beim Tränken von Weidevieh an offenen Wasserstellen sind vor allem in den Ländern Skandinaviens und Süd-Afrikas alljährlich große Tierverluste zu beklagen. Intoxikationen mit Todesfällen sind von folgenden Tierarten bekannt: Rind, Pferd, Schaf, Schwein, Huhn, Ente, Gans, Taube, Reiher, Singvögel, Hund, Kaninchen, Frösche, Fische und Schnecken (C a r m i c h a e l und S c h w a r t z , 1984; T u s t i n et al., 1973; L i n d et al., 1983). Selbst von Todesfällen bei Rhinozerossen wird berichtet, die im Nationalpark von Barakologadi, Süd-Afrika, von einer mit Microcystis aeruginosa kontaminierten Wasserquelle getrunken hatten. Bei der Sektion dieser Tiere wurde folgendes registriert: Schwere Hepatomegalie mit Hämorrhagien und Nekrosen in den Leberlappen, sowie zahlreiche Ecchymosen und Petechien im Unterhautgewebe von Thorax, Abdomen und Zwerchfell. Histologisch war die schwere Lebernekrose signi-

fikant. Bei der toxikologischen Untersuchung im Labor wurde eine LD_{100} von 19 mg Algentrockenmasse/kg Maus ermittelt (S o l l und W i l l i a m s , 1985).

Das Toxin von Microcystis aeruginosa variiert in seiner Toxizität unter den einzelnen Microcystis-Stämmen stark (10 - 200 mg Algentrockenmasse/kg Maus). Toxizitätsbestimmungen des häufig auftretenden Stammes NRC-1 ergeben nach Aufreinigung des Toxins folgende LD_{50} bzw. LD_{100}-Werte:

LD_{50}	=	0,46	mg/kg Maus	Bishop et al., (1959)
LD_{100}	=	0,1	mg/kg "	Murthy und Capindale, (1970)
LD_{100}	=	70	ug/kg "	Elleman et al., (1978)
LD_{100}	=	2,6	mg/kg "	Watanabe und Oishi, (1982)
LD_{50}	=	50	ug/kg "	Carmichael, (1986b)
LD_{50}	=	50	ug/kg "	Krishnamurthy, (1986)

Untersuchungen von Organen verschiedener Tierarten nach oraler Aufnahme bzw. intraperitonealer Injektion dieses Toxins weisen folgende Veränderungen auf: punktförmige Hämorrhagien, die von einer gelb-grauen Degenerationszone begrenzt sind; Vergrößerte hyperämische Leber. Nach oraler Applikation treten im Gastrointestinaltrakt leichte Hyperämie der Mukosa sowie Spuren von Blut im Ingesta auf (K o n s t et al., 1965).

Injiziert man Mäusen (18 - 20 g) 23 ug des aufgereinigten Toxins intraperitoneal, so können folgende Symptome beobachtet werden: Nach 15 Minuten der Injektion drängen sich die Mäuse zusammen, werden lethargisch und wirken entkräftet. Muskelzittern mit krampfartigen Bewegungen treten auf. Ohren, Augen und

Schwänze werden blaß. Die Autopsie bringt folgendes Ergebnis:

Nach 15 Minuten: keine Veränderungen der Organe.

Nach 30 Minuten: die Leber ist stark geschwollen.

Nach 45 Minuten: starke Lebergewichtzunahme; Leberlappen dunkelrot verfärbt und von Hämorrhagien durchsetzt.

Leberenzymveränderungen: Laktat-Dehydrogenase = 20 % Anstieg

Aspartat-Amonitransferase = 50 % Anstieg (s. Tab. 4).

Tab. 4 aus Falconer et al., 1981

Veränderungen des Blutgehaltes und Lebergewichtes und der Enzyme Aspartat-Aminotransferase und Laktat-Dehydrogenase nach i.p. Injektion von 23 ug aufgereinigtem Toxin (Microcystis aeruginosa) bei Mäusen (18 - 20 g)

Mäuse	Anzahl der Mäuse	Lebergewicht (g/100 g KGw.)	Blutgehalt der Leber (ml/100 g Gewebe)	Aspartat-Aminotransferase (Einheiten/ml Serum)	Laktat-Dehydrogenase (Einheiten/ml Serum)
Kontrolle	6	4,27 +/- 0,11	6,55 +/- 0,92	0,13 +/- 0,04	2,7 +/- 0,3
15 Min.	7	5,63 +/- 0,26	22,13 +/- 4,28	3,70 +/- 2,0	13,3 +/- 7,0
30 Min.	7	6,23 +/- 0,18	43,47 +/- 3,76	7,40 +/- 1,9	33,3 +/- 8,0
45 Min.	7	6,99 +/- 0,32	53,40 +/- 2,73	9,70 +/- 0,9	38,0 +/- 3,3

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Leber zeigen sich massenhaft zerstörte Hepatozyten und in der Lunge kleine Thromben und Ödeme in den Alveolarwänden. Raster-Elektronenmikroskospische Untersuchungen der Leber weisen massenhaft Erythrozyten auf. Das sinusoide Endothel ist nach 60 Minuten verschwunden. Es sind keine strukturellen Gewebeunterschiede mehr zu erkennen (s. Fig. 9). Man findet zerstörte Hepatozyten mit Kernverlust und intrazellulärer Strukturauflösung (F a l c o n e r et al., 1981, 1983a, 1983b).

Fig. 9 aus Runnegar und Falconer, 1981

Raster-Elektronenmikroskopische Aufnahmen einer Mäuseleber nach Injektion (i.p.) von Microcystis-Toxin: Progressive Zerstörung des Lebergerüstes; Zerfall des sinusoiden Endothels; Anhäufung von Erythrozyten
A = 5 Min.; B + C = 30 Min.; D = 60 Min. nach Toxininjektion

"In vivo" und "in vitro" Untersuchungen, die den genaueren Wirkungsmechanismus des Toxins aufklären sollen, zeigen folgendes Ergebnis:
"In vivo": Der Hauptangriffspunkt des Toxins ist nicht die Proteinsynthese. Das Toxin hat keinen direkten Einfluß auf metabolische Vorgänge der Leber.
"In vitro": Das Toxin verursacht dosis- und zeitabhängige Deformierung der Hepatozyten (s. Fig. 10). Eine Hämagglutination der Erythrozyten tritt nicht ein (vgl. Carmichael und Bent, 1981). Es kommt nicht zur Lysis der Erythrozyten und es können keine mutagenen Eigenschaften des Toxins festgestellt werden (getestet an Salmonella typhimurium, Stamm TA 98 und TA 100) (Runnegar und Falconer, 1982a).

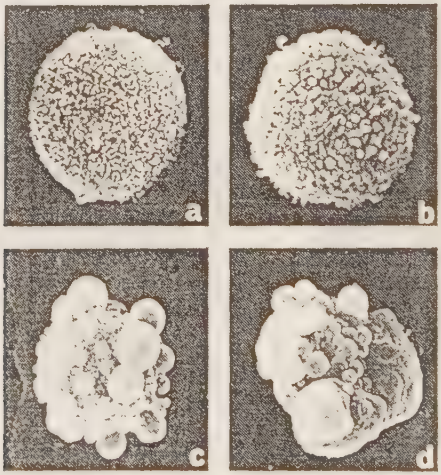


Fig. 10 aus Runnegar und Falconer, 1982a

Raster-Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Rattenhepatozyten nach Inkubation mit Microcystis-Toxin:

a = Kontrolle;
b = 5 Min. nach Hinzufügen von 1 ug Toxin/ml;
c = 30 Min. nach Hinzufügen von 1 ug Toxin/ml;
d = 120 Min. nach Hinzufügen von 2 ug Toxin/ml

Den prozentualen Anteil deformierter Hepatozyten in Abhängigkeit von unterschiedlichen Dosierungen des Microcystis-Toxins zeigt Tab. 5:

Tab. 5 aus Runnegar und Falconer, 1982a

	Microcystis-Toxin (ug/ml)							
	0.00	0.01	0.03	0.05	0.07	0.1	0.5	1.0
% deformierter Zellen	5	12	58	83	97	99	99	99

Man vermutet, daß das Toxin von Microcystis aeruginosa den gleichen Carrier bzw. Transportmechanismus in die Hepatozyten benutzt wie die Gallensäure und Phalloidin, einem bizyklischem Heptapeptid-Toxin des Pilzes Amanita phalloides, das ähnlich pathologische Veränderungen an den Hepatozyten verursacht wie das Hepatotoxin von Microcystis aeruginosa (Runnegar et al., 1981; Runnegar und Falconer, 1981, 1982b). Die Substanzen Bromosulphophthalein, Rifampicin und Deoxycholat unterbinden die Aufnahme der Gallensäure und des Phalloidin in die Hepatozyten. Werden Hepatozyten, bevor sie mit Microcystis-Toxin kontaminiert werden, mit diesen Substanzen inkubiert, so wird die Wirkung des Toxins entweder völlig aufgehoben oder abgeschwächt (s. Tab. 6).

Tab. 6 aus Runnegar und Falconer, 1982b

In vitro Auswirkungen des Toxins von Microcystis aeruginosa und Phalloidin

Auswirkung	Algentoxin	Phalloidin
	Leberschnitte	
Direkte Auswirkung auf: Protein, RNS, DNS-Synthese	Nein	Nein
Sauerstoffverbrauch	Nein	Nein
	Isolierte Hepatozyten	
Zell-Tod	Nein	Nein
Deformation	Ja	Ja
a) dosisabhängige Deformation (50%) für 1-2x10^6 Zellen/ml durch	0,03 ug	1,00 ug
b) zeitabhängig	Ja	Ja
c) wird verhindert durch vorherige Gabe von Bromosulphophthalein, Rifampicin und Deoxycholat	Ja	Ja

Aus diesem Ergebnis folgert man, daß das Microcystis-Toxin den gleichen Carrier bzw. Transportmechanismus benutzt wie die Gallensäure (Runnegar und Falconer, 1982b).

Auf das Zellgerüst der Hepatozyten (Mikrofilamente) hat das Microcystis-Toxin im Gegensatz zu Phalloidin keinen Einfluß. Der Anteil an G- und F-Aktinfilamente wird durch Microcystis-Toxin nicht verändert (Runnegar und Falconer, 1986; Runnegar et al., 1986, 1987).

Es existieren drei in ihrer Toxizität unterschiedliche Toxine von Microcystis aeruginosa: Ein Fast Death Faktor (FDF) Toxin, welches erste Intoxikationserscheinungen und schließlich Tod der Mäuse (i.p. injiziert) in weniger als einer Stunde verursacht; ein Slow Death Faktor (SDF) Toxin, welches bei Mäusen innerhalb von 48 Stunden zum Tod führt und ein Diarrhö verursachendes Toxin (F o x a l l und S a s n e r, 1981).

Das Microcystis-Toxin ist für Gliederfüßer, Amphibien und Knochenfische unschädlich. Es beeinflußt nicht die elektrischen und mechanischen Funktionen von Nerven und Muskeln. Bei in vitro Untersuchungen von Leberzellen und Mikroexplantaten pränataler und juveniler Mäuse und Ratten zeigt sich, daß diese Zellen nicht von Microcystis-Toxin affektiert werden. Werden neonatale und junge Mäuse mit dem Toxin-Extrakt von Microcystis aeruginosa injiziert (i.p.), so werden keine Symptome einer Intoxikation oder Leberläsion bei der anschließenden Sektion gesehen. Es kommt erst zu Todesfällen bei Mäusen, die älter als 20 Tage sind (F o x a l l und S a s n e r , 1981).

Vergleicht man die Überlebenszeit von männlichen und weiblichen Mäusen, die unterschiedliche Dosen des Microcystis-Toxins erhalten (i.p.), so sieht man, daß weibliche Mäuse viel empfindlicher auf das Toxin reagieren als männliche (s. Fig. 11) (E l o f f und van der W e s t h u i z e n , 1981).

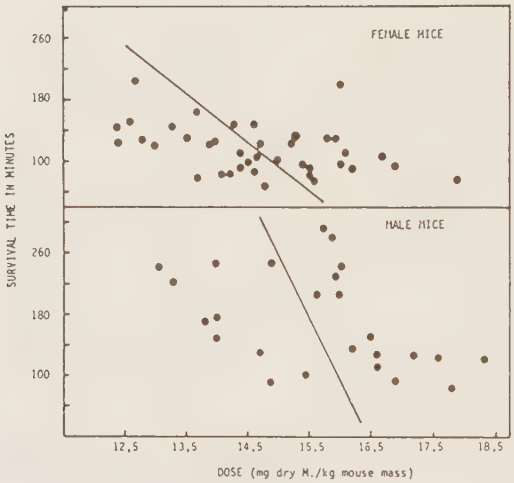


Fig. 11 aus Eloff und van der Westhuizen, 1981

Überlebenszeit (Min.) von männlichen und weiblichen Mäusen, die mit unterschiedlichen Dosierungen des Microcystis-Toxins (mg Trockenmasse/kg Maus) injiziert (i.p.) werden

Werden Mäuse, die i.p. mit 100 ug/kg Microcystis-Toxin injiziert werden, 10 Minuten später seziert und die Hepatozyten histologisch untersucht, so zeigt sich folgendes Bild: Starke Vesikulation des rauhen Endoplasmatischen Retikulums (ER), geschwollene Mitochondrien, membrangebundene Vakuolen mit Fetttröpfchen im Zytoplasma, strukturelle Veränderungen der Hepatozyten, Degranulation (teilweise oder völliger Verlust der Ribosomen). Das glatte Endoplasmatische Retikulum (ER) wird nicht betroffen (D a b h o l k a r und C a r m i c h a e l , 1987).

Da das Microcystis-Toxin zunächst in die Leber transportiert und dort in größeren Mengen absorbiert wird, erleiden die Hepatozyten den größten Schaden. Aber auch andere Zellen von Lunge, Zervix, Ovar und Nieren werden von dem Toxin affektiert. Untersucht man Zellen dieser Organe, nachdem sie mit dem Toxin kontaminiert wurden, und setzt Trypan-blau zu, so erkennt man deutlich, daß einer der ersten schädigenden Einflüsse des Toxins die Zerstörung der Zellmembran ist, mit dem Verlust der Permeabilität der Zelle und dem daraus folgendem Leberenzymanstieg im Serum (G r a - b o w et al., 1982).

Werden gravide Mäuse mit dem Microcystis-Toxin injiziert (i.p.), so wird die Embryogenese und Teratogenese stark beeinflußt: Es kommt zum Absterben der Embryos, zu Fehlgeburten und Mißbildungen. Bei den Mißbildungen fällt auf, daß die Feten viel kleiner sind als Kontrolltiere. Bei der pathologischen Untersuchung der Embryos findet man in vielen Organen Hämorrhagien. Skelettveränderungen treten nicht auf. Nach Injektion (i.p.) juveniler Mäuse kommt es zu Störungen der Gonadenentwicklung. Die Spermienmotilität sinkt, die Anzahl toter Spermien steigt, die Anzahl der Spermatogonien und Spermatozyten sinkt, das Wachstum und die Reifung der Oozyten wird unterdrückt, die Follikel-Reifung ist gestört, man findet degenerativ veränderte Oozyten. Werden die Toxininjektionen (i.p.) über längere Zeit fortgesetzt, so steigt der Anteil an Chromosomenanomalien an (K i r p e n k o et al., 1981).

Post-mortem Untersuchungen bei Mäusen, die zuvor eine letale Dosis (i.p.) Toxin injiziert bekommen, zeigen folgendes Bild: Blasser Tierkörper, vergrößerte dun-

kelrote Leber mit rot gesprenkelter Oberfläche, Nieren und Lunge erscheinen blaß, das Myocard zeigt leichte degenerative Veränderungen, auf der Lungenoberfläche erkennt man fokale Hämorrhagien und in einigen Bereichen ist das Lungengewebe atelektatisch (O s t e n s v i k et al., 1981).
Injiziert man Ratten (200-250 g) 1 ml des Microcystis-Toxin-Extrakts (äquivalent zu 50 mg gefriergetrockneter Algen) langsam i.v. über einen Zeitraum von 5 Minuten, so sinkt der Blutdruck innerhalb der ersten 1,5 Minuten stark ab, steigt jedoch noch vor Beendigung der Injektion auf normale Werte wieder an. Während der folgenden 90 Minuten sinkt der Blutdruck langsam bis auf sehr niedrige Werte ab, bevor die Tiere sterben (s. Fig. 12).

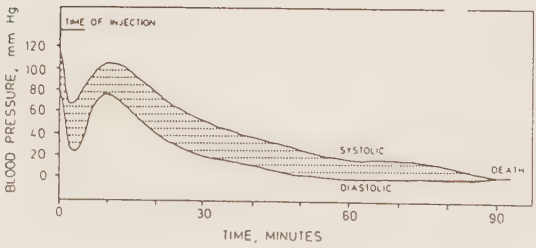


Fig. 12 aus Ostensvik et al., 1981

Systolischer und diastolischer Blutdruckabfall bei einer Ratte, der 1 ml Microcystis-Toxin-Extrakt (i.v.) injiziert wird

Gleichzeitig steigt mit dem Sinken des Blutdruckes das Lebergewicht von anfangs 3,7 % - auf über 6 % des Körpergewichts an (s. Fig. 13).

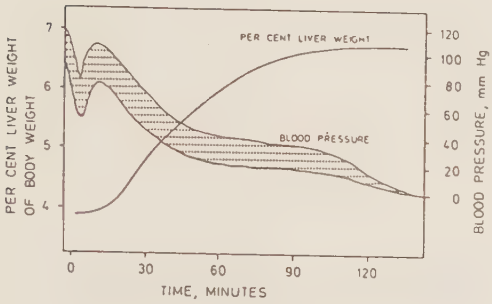


Fig. 13 aus Ostensvik et al., 1981

Veränderung des Blutdruckes und Lebergewichtes einer Ratte, der 1 ml Microcystis-Toxin-Extrakt injiziert (i.v.) wird

Post-mortem Untersuchungen des abdominalen Blutsystems von Mäusen, die zuvor mit dem Toxin-Extrakt von Microcystis aeruginosa injiziert wurden (i.p.), zeigen ein stark kontrahiertes Gefäßsystem (O i s h i und W a t a n a b e , 1986).
Verabreicht man Mäusen Microcystis-Toxin-Extrakt und Phenoxybenzamin gemeinsam (i.p.), so wird die Sterblichkeit (Prozent) und der Todeseintritt (Zeit nach Toxin-Verabreichung) verzögert (s. Fig. 14).

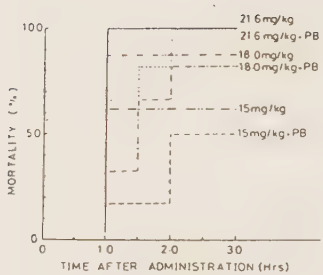


Fig. 14 aus Oishi und Watanabe, 1986

Sterblichkeit (%) von Mäusen, denen Microcystis-Toxin-Extrakt und 5 mg/kg Phenoxybenzamin injiziert wurde

10 - 20 Minuten nach Toxin-Injektion kommt es zur Tachykardie, und nach 40 Minuten entwickelt sich eine terminale Bradykardie (s. Fig. 15).

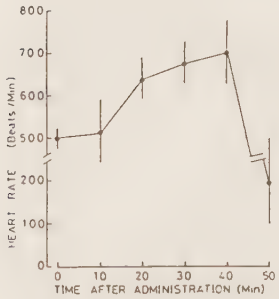


Fig. 15 aus Oishi und Watanabe, 1986

Veränderung der Herzfrequenz von Mäusen, denen Microcystis-Toxin-Extrakt (20 mg Trockenmasse/kg) injiziert wird

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß das Toxin das sympathische Nervensystem stimuliert (O i s h i und W a t a n a b e , 1986).

Wird bei Ratten, die eine 1200 ug/kg Microcystis-Toxin-Injektion erhalten (i.p.), der arterielle Blutdruck und die Milchsäurekonzentration gemessen, so sieht man, daß der arterielle Blutdruck graduell abfällt, während die Milchsäurekonzentration ansteigt. Die Mäuse sterben, nachdem der Blutdruck unter 20 mm Hg gesunken ist (s. Fig. 16).

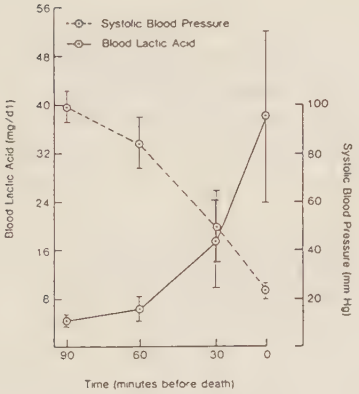
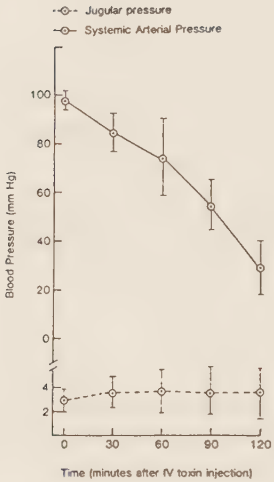


Fig. 16 aus Theiss und Carmichael, 1986

Veränderungen des systolischen Blutdruckes und der Milchsäurekonzentration bei Ratten nach (i.p.) Injektion von 1200 ug/kg Microcystis-Toxin

Mißt man den venösen, jugularen und Pfortader-Blutdruck zusammen mit dem arteriellen Blutdruck, so fällt der arterielle Blutdruck steil ab, während der jugulare und Pfortader-Blutdruck kaum Veränderungen unterliegt (s. Fig. 17 u. 18).



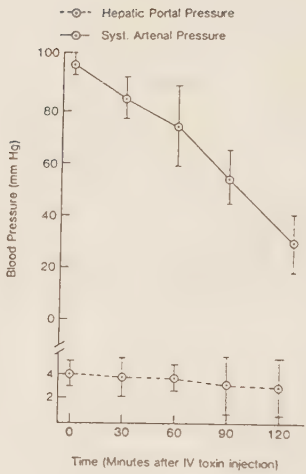


Fig. 17 und 18 aus Theiss und Carmichael, 1986

Veränderungen des venösen, jugularen-, Pfortader- und des systolisch arteriellen Blutdruckes nach (i.p.) Injektion von 1200 ug/kg Microcystis-Toxin

Bei zusätzlicher Untersuchung der Lunge dieser Mäuse fallen amorphe, globuläre eosinophile Ablagerungen ohne Fibrin auf, die nicht dem Endothel anhaften. Diese Emboli, die vorwiegend aus Proteintrümmern zerstörter Hepatozyten bestehen, verursachen bei diesen Mäusen weder Rechtsherzversagen noch Lebernekrose. Bei einer Lungenemboli, die Rechtsherzversagen und zentrilobuläre Lebernekrose hervorrufen würde, würde der venöse Blutdruck durch Hypertension auf 10 mm Hg oder mehr ansteigen. Aus diesem Grunde ist die Todesursache auf

den rapid abfallenden arteriellen Blutdruck mit dem Anstieg der Milchsäure zurückzuführen, so daß die Mäuse an hypovolämischem Schock sterben (Theiss und Carmichael, 1986). Bei weiteren Untersuchungen an Mäusen, die ebenfalls zuvor Microcystis-Toxin erhalten hatten (i.p.), findet man Thromben in der Lunge, die unregelmäßige Klumpen von Granulozyten ohne Fibrinfäden und Erythrozyten enthalten. Es wird vermutet, daß diese Thromben Hypoxämie, Herzversagen und Schock verursachen und die Mäuse an diesen Symptomen sterben (Slatkin et al., 1983; Siegelman et al., 1984).

Untersuchungen über Verteilung des Toxins in den einzelnen Organen zeigen eindeutig, daß das Toxin primär in der Leber gefunden wird. Wird das Toxin mit radioaktivem Jod markiert, so läßt sich die Verteilung in Abhängigkeit von der Zeit wie folgt darstellen (s. Tab. 7):

Tab. 7 aus Falconer et al., 1986

Gewebsverteilung des mit Jod^{125}-radioaktiv-marktiertem Microcystis-Toxins bei Ratten, nach 30 oder 120 Minuten der i.v. Injektion

Gewebe	Konzentration (Radioaktivität/g) nach 30 Min.		120 Min.	
Leber	3,0	+/- 0,1	4,7	+/- 0,7
Darminhalt				
0-30 cm Duodenum	28,7	+/- 3,4	14,6	+/- 3,5
30-60 cm "	0,0		21,0	+/- 5,7
Duodenum	0,6	+/- 0,4	1,6	+/- 0,4
Niere	3,5	+/- 0,2	6,2	+/- 0,7
Urin	9,3	+/- 4,3	41,4	+/- 18,2
Ovarien	0,5	+/- 0,01	0,6	+/- 0,01
Milz	0,5	+/- 0,02	0,8	+/- 0,1
Gehirn	0,04	+/- 0,01	0,04	+/- 0,01
Nebennieren	0,4	+/- 0,02	0,5	+/- 0,03
Fett (intra-abdominal)	0,1		0,11	+/- 0,01
Muskel (Bein)	0,13	+/- 0,01	0,15	+/- 0,01

Aus dieser Tab. ist zu sehen, daß die Leber und die Nieren die höchsten Gewebskonzentrationen aufweisen. Die hohen Konzentrationen im Darminhalt und Urin resultieren aus dem Stoffwechselablauf dieser Organe (F a l c o n e r et al., 1986).

Vergleicht man die Verteilung des Toxins, welches mit C^{14}-radioaktiv-markiert wird, in unterschiedlichen Organen in einem Zeitablauf von 1 - 180 Minuten, so ergibt sich folgende prozentuale Aufteilung (s.Tab. 8).

Tab. 8 aus Brooks und Codd, 1987

Verteilung des mit C^{14}-radioaktiv markiertem Toxins von Microcystis aeruginosa in verschiedenen Organen von Mäusen, die i.p. injiziert wurden

	Verteilung (%) in der Zeit (Min.) von:							
Organ	1	5	10	15	30	60	120	180 Min.
Leber	75,8 +/- 2,0	73,1 +/- 2,1	74,0 +/- 5,2	74,2 +/- 3,5	74,4 +/- 1,3	76,6 +/- 1,4	82,8 +/- 2,7	88,1 +/- 2,0
Lunge	5,2 +/- 1,2	3,5 +/- 0,2	3,9 +/- 2,0	3,4 +/- 0,6	4,4 +/- 0,3	7,3 +/- 1,2	1,9 +/- 0,8	1,6 +/- 0,4
Nieren	1,9 +/- 0,6	5,3 +/- 1,7	4,8 +/- 1,4	5,9 +/- 0,9	7,3 +/- 0,2	8 +/- 3,5	5,6 +/- 2,0	1,1 +/- 1,0
Herz	4,7 +/- 0,2	10,5 +/- 0,3	4,5 +/- 0,1	4,7 +/- 1,3	4,4 +/- 0,2	3,1 +/- 0,3	2,7 +/- 0,4	2,5 +/- 0,4
Dickdarm	4,8 +/- 0,2	2,8 +/- 0,3	4,3 +/- 0,3	4,6 +/- 0,9	4,3 +/- 0,2	4,2 +/- 0,4	3,0 +/- 0,7	2,6 +/- 3,5
Ileum	3,2 +/- 0,1	2,7 +/- 0,2	4,4 +/- 2,1	4,1 +/- 1,0	2,7 +/- 0,2	2,1 +/- 0,1	1,6 +/- 0,1	0,9 +/- 0,9
Milz	4,3 +/- 0,7	2 +/- 0,4	4,0 +/- 0,2	3,1 +/- 0,2	2,5 +/- 0,2	2,9 +/- 0,2	2,3 +/- 0,1	2,2 +/- 0

Man sieht aus Tab. 8, daß nach 1 Minute ca. 75 % des radioaktiv markierten Toxins in der Leber vorliegen. Nach 180 Minuten ist dieser Anteil auf ca. 88 % gestiegen. Das Toxin steigt in Abhängigkeit von der Zeit in der Leber stetig an, während es in den anderen Organen abfällt. Wahrscheinlich wird es bei jeder Zirkulationspassage in der Leber gebunden. Die sehr rasche Aufnahme des Toxins in der Leber deutet auf einen speziellen Transportmechanismus hin (B r o o k s und C o d d , 1986, 1987).

Injiziert man 6 Monate alten Merino-Schafen das Microcystis-Toxin intraruminal, so können folgende Symptome bzw. bei der anschließenden Sektion Veränderungen gesehen werden:
Nach 15 Stunden: Häufiges Niederwerfen, Muskelzittern, Schwierigkeiten beim Aufstehen, Ruderbewegungen der Extremitäten, Luftschnappen, beschleunigter und schwacher Puls, sequente oder dyspnoeische Atmung, blaß-zyanotische Schleimhäute, sistieren der Pansentätigkeit und schließlich Exitus (J a c k s o n et al., 1983, 1984).

Man kann ein dosisabhängiges Verhalten bei Schafen, welches man in drei Gruppen einteilt, unterscheiden (s. Tab. 9):

Tab. 9 aus Jackson et al., 1984

	Schafe	Dosis mg/kg	Todeseintritt nach:
Gruppe 1:	1	730	-
	2	840	-
	3	950	-
Gruppe 2:	4	990	-
	5	1010	-
	6	1040	-
Gruppe 3:	7	1040	48 Std. + 30 Min.
	8	1050	41 Std.
	9	1070	18 Std.
	10	1070	21 Std. + 54 Min.
	11	1090	22 Std. + 55 Min.
	12	1380	21 Std. + 30 Min.
	13	1450	23 Std. + 15 Min.
	14	1490	20 Std.
	15	1840	19 Std. + 15 Min.

Gruppe 1 = keine klinischen Veränderungen
Gruppe 2 = leichte klinische Veränderungen (teilnahmslos, Stumpfsinnigkeit, reduzierte Pansentätigkeit, inappetent)
Gruppe 3 = starke klinische Veränderungen.

Bei der Sektion ergibt sich folgendes Bild: gelbliche Flüssigkeitsansammlung im Mediastinum, Brusthöhle und Peritoneum; Lunge leicht ödematös; Lebergewicht um bis zu 50 % erhöht.

Die lichtmikroskopische Untersuchung zeigt: zentrilobuläre Nekrosen der Hepatozyten, nekrotische Zellen, Pyknose und Karyorrhexis der Zellen, neutrophile Infiltration von Lunge, Leber und Gallengängen.
Elektronenmikroskopische Untersuchung: vermehrtes Endoplasmatisches Retikulum (ER); Vesikulation der nekrotischen Hepatozyten; Verlust der Zellmembran und Mikrovilli; Neutrophilie; Fibrinfäden im Zytoplasma (Jackson et al., 1984).

Werden bei diesen Schafen die Leberenzymveränderungen untersucht, so ergibt sich folgendes Bild (s. Fig. 19):

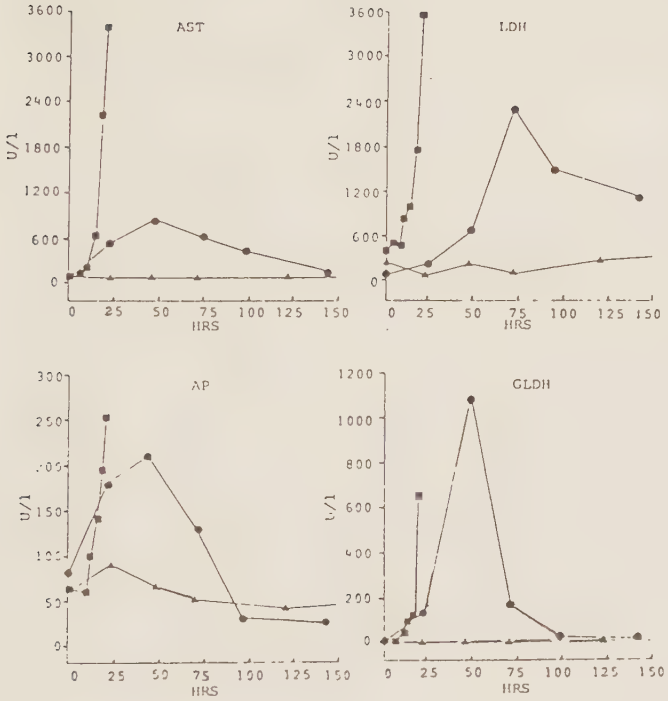


Fig. 19 aus Jackson et al., 1984

Veränderungen der Aspartat-Aminotransferase (AST), Laktat-Dehydrogenase (LDH), Alkalische Phosphatase (AP) und Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) Konzentrationen nach intraruminaler Microcystis-Toxin Injektion bei Schafen

Die Leberenzymveränderungen werden in drei dosisabhängige Gruppen unterteilt (s. Tab. 9)

Gruppe 1 = keine bis leichte Veränderungen (▲)

Gruppe 2 = plötzlicher Anstieg mit anschließendem raschen Abfall der Enzym-Konzentrationen (●)

Gruppe 3 = plötzlicher Anstieg aller Enzyme, welches auf den schweren Leberschaden hinweist (■)

Auch direktes und indirektes Bilirubin sowie Blut-Glukose unterliegen verschiedenen Veränderungen nach Toxin-Applikation. Wieder werden die Schafe nach den drei dosisabhängigen Gruppen eingeteilt (s. Tab. 9).
Gruppe 1 = keine bis leichte Veränderungen (▲).
Gruppe 2 = zunächst steiler Anstieg von direktem - und indirektem Bilirubin mit anschließendem langsamem Abfall; die Blut-Glukose fällt zeitweilig kurz ab (●).
Gruppe 3 = steiler Anstieg von direktem - und indirektem Bilirubin, starker Abfall der Blut-Glukose (■) (s. Fig. 20).

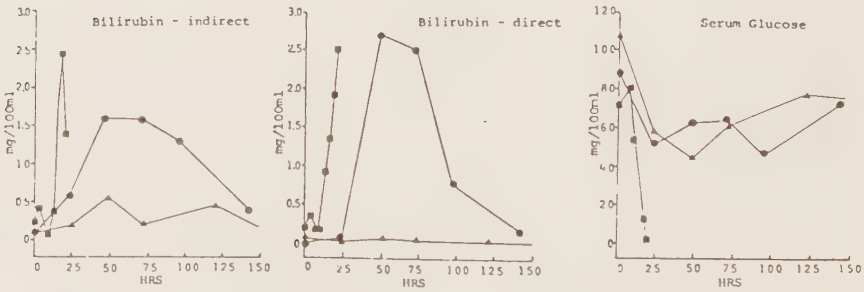


Fig. 20 aus Jackson et al., 1984

Veränderungen von direktem-, indirektem Bilirubin und Blut-Glukose im Serum nach intraruminaler Microcystis-Toxin Injektion bei Schafen

Aus diesen Veränderungen ist zu sehen, daß die Leber nicht mehr in der Lage ist, das Bilirubin zu konjugieren. Das bereits konjugierte Bilirubin fließt in den Blutstrom zurück (J a c k s o n et al., 1984; Mc I n n e s et al., 1983).

Untersuchsungen der Gewichtsveränderungen verschiedener Organe von Mäusen nach Injektionen (i.p.) von Microcystis-Toxin-Extrakt unterstreichen die enorme Gewichtszunahme und starke Blutfülle der Leber (s. Tab. 10).

Tab. 10 aus Oishi und Watanabe, 1986

Organgewichtsveränderungen nach Injektion (i.p.) von Microcystis-Toxin-Extrakt

Organ	Gewicht Kontrolle (g)	Gewicht nach Injektion (g)
Leber	1,74 +/- 0,097	2,92 +/- 0,33
Niere	0,461 +/- 0,035	0,461 +/- 0,097
Lunge	0,193 +/- 0,020	0,193 +/- 0,18
Hoden	0,177 +/- 0,011	0,18 +/- 0,032
Herz	0,145 +/- 0,021	0,136 +/- 0,008
Milz	0,131 +/- 0,029	0,110 +/- 0,017

6. Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae

6.1. Voraussetzungen für ihr massives Auftreten

Die fadenförmigen Süßwasser-Blaualgen Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae leben ebenso wie Microcystis aeruginosa in eutrophen Gewässern. Wesentliche Voraussetzungen für das plötzliche Auftreten dieser Algen sind: mäßige Bewegungen der oberflächlichen Wasserschichten, Windstille, großes Nährstoffangebot, zahlreiche Algen im Ruhestadium (Akineten) am Gewässergrund, Vorhandensein von Gasvakuolen (Reynolds, 1984; Pearl und Ustach, 1982). An windstillen Tagen ist die Bereitstellung von freiem CO_2 besonders in wenig gepufferten Gewässern erschöpft, so daß der pH-Wert des Gewässers steigt (pH 7 - pH 10). Die Photosyntheserate von Wasserpflanzen wird auf diese Weise stark reduziert. Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae sind jedoch in der Lage, freies CO_2 aus der Übergangsschicht Luft-Wasser aufzunehmen, um so ihre Photosyntheserate aufrechtzuerhalten. Auf diese Weise erhalten diese Blaualgen einen ökologischen Vorteil über die sich in den darunterliegenden Wasserschichten befindlichen Pflanzen und Algen (Pearl und Ustach, 1982). Desweiteren sind Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae fähig, atmosphärischen Stickstoff an sogenannte Heterocysten zu binden. Heterocysten sind Zellen, die sich von den vegetativen Zellen durch ihren glasigen, oft gelblichen Inhalt und durch das Fehlen von Gasvakuolen unterscheiden. Auffallend ist ihre

dicke Zellwand. Durch Verlust der Heterocysten sind diese Algen nicht mehr befähigt atmosphärischen Stickstoff zu binden. In Gewässern mit niedrigem Stickstoffgehalt (NH 4) wird die Bildung von Heterocysten stimuliert, während sie bei hohem Stickstoffgehalt des Gewässers ganz oder teilweise unterbleibt (Zevenboom et al., 1981; Bottomley et al., 1979; Pearl, 1976).
Durch Veränderungen des Milieus, die ein vegetatives Wachstum für Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae nicht mehr gewährleisten, unterziehen sich diese Algen einer Differenzierung, bei der vegetative Zellen in Akineten (durch Sporulation) überführt werden. Akineten sind große dickwandige Zellen mit Reservestoffen, die diesen Algen das Überleben unter ungünstigen Umweltbedingungen (Trockenheit, Kälte, Nährstoffmangel, starke Sonneneinstrahlung) gewährleisten (Rother und Fay, 1979).
Anabaena flos-aquae scheidet Siderochrome (Komplexbildner) aus, die mit Eisen Komplexe bilden. Diese Siderochrome hemmen das Wachstum anderer Algen, so daß ein Wachstumsvorteil für Anabaena flos-aquae entsteht (Murphy und Lean, 1976).

6.2. Physikalisch-chemische Eigenschaften des Toxins von Anabaena flos-aquae (Anatoxin)

Anatoxin ist in Wasser, Äthanol und Methanol löslich. Nach Aufreinigung des Toxins erhält man ein weißes kristallines Pulver, das säure-, licht- und hitzestabil ist. Im Alkalischen zerfällt es (Carmichael, 1986b). Es besitzt strukturelle Ähnlichkeit mit Kokain, teilt aber nicht die pharmakologischen Eigenschaften mit diesen Stoff (Devlin et al., 1977).

6.3. Strukturanalysen und Biosynthese von Anatoxin-a

Anatoxin-a ist ein sekundäres Amin mit der Strukturformel: $C_{10}H_{15}NO$. Das Molekulargewicht des Toxins beträgt 166 Dalton (C a r m i c h a e l , 1986d). Der systemische Name dieses Toxins ist 2-acetyl-9-Azabicyclo(4.2.1.)non-2-ene (D e v l i n et al., 1977; S p i v a k et al., 1980). Durch Röntgenbeugung ergibt sich folgende Struktur dieses Toxins (H u b e r, 1972; C a r m i c h a e l et al., 1979):

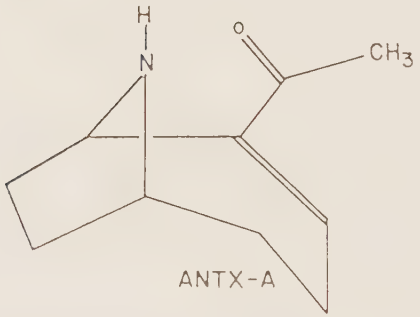


Fig. 21 aus Carmichael et al., 1979

Struktur von Anatoxin-a vom Stamm Anabaena flos-aquae NRC-44-1

Der erste Schritt zur Biosynthese des Toxins ist die intramolekulare Zyklisation eines Imminiumsalzes mit einem nukleophilen Kohlenstoff (B a t e s und R a p o p o r t , 1979). Aber auch über Cyclopropanderivate und Ringerweiterung des L-Kokains ist die Synthese möglich (C a m p b e l l et al., 1977, 1979).

6.4. Pharmakologie und Toxizität der Anatoxine

Anabaena flos-aquae produziert Alkaloid-Toxine mit neurotoxischer Wirkung. Man kennt verschiedene Anatoxine von unterschiedlichen Stämmen (s. Tab. 11):

Tab. 11 aus Carmichael und Gorham, 1980

Anabaena flos-aquae		
Stamm	Toxin	Struktur
NRC-44-1	Anatoxin-a	$C_{10}H_{15}NO$
NRC-525-17-b-1-e	Anatoxin-a(s)	unbekannt
A-52-5-n-e-7-1-2-j	Anatoxin-b	"
S-UTH-1	Anatoxin-b(s)	"
A-113-9-q-2	Anatoxin-c	"
S-23-g	Anatoxin-d	"

Anatoxin-a ist eine stark postsynaptisch depolarisierende, neuromuskulär blockierende Substanz (Carmichael et al., 1979; Spivak et al., 1980). Wird dieses Toxin von Küken, Enten oder Fasanen aufgenommen, so tritt bei diesen Tieren als neurotoxische Reaktion Opisthotonus ein (Carmichael et al., 1975). Vergleicht man die Wirkung von Anatoxin-a mit den Substanzen Acetylcholin, Carbachol, Dekamethonium an einem isoliertem Froschmuskel (Muskulus rektus abdominis), so erkennt man, daß bei Erstellen von Dosis-Reizantwortkurven die Wirkung von Anatoxin-a qualitativ ähnlich derer ist, wie sie von Acetylcholin, Carbachol und Dekamethonium erhalten wird (s. Fig. 22).

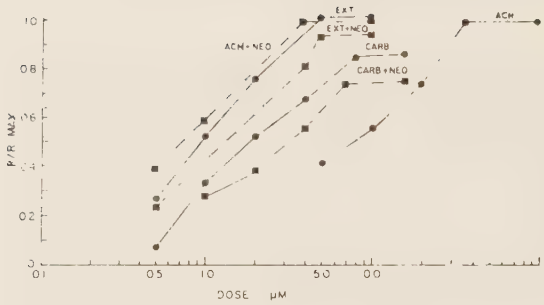


Fig. 22 aus Carmichael et al., 1979

Dosis-Reizantwortkurven vom Froschmuskel (M. rektus abdominis)

EXT = Anatoxin-a-Extrakt; CARB = Carbachol
ACH = Acetylcholin; NEO = Neostigmin

Fig. 22 zeigt dieses Ergebnis, wobei nach Hinzufügen von Neostigmin die Reizantworten von Acetylcholin potenziert werden, während Anatoxin-a-Extrakt und Carbachol fast nicht reagieren (C a r m i c h a e l et al., 1979).

Injiziert man Anatoxin-a-Extrakt oder synthetisch hergestelltes Anatoxin-a in Dosen von 12,5 und 25 ug/kg in die Oberschenkelvene einer anästhesierten Katze, so wird ein starker Anstieg der Muskelkontraktionen beobachtet. Zu diesen Muskelkontraktionen kommen Muskelfaszikulationen und zeitweilig ein starker Anstieg des Blutdruckes. Bei Konzentrationen, die 25 ug/kg überschreiten, kommt es zur Muskelblockade, die für länger als eine Stunde anhält. Diese starke neuromus-

kulär blockierende Wirkung ist ähnlich der Wirkung, wie sie nach Injektion von Dekamethonium beobachtet wird (C a r m i c h a e l et al., 1979).

Verschiedene Tierspezies reagieren unterschiedlich empfindlich auf Anatoxin-a. Bestimmt man den LD_{90}-Wert von Mäusen (18-28 g), Ratten (150-330 g), Küken (30-50 g), Goldfischen (15-30 g), Stockenten (800-1000 g) und Ring-Fasanen (1000-1200 g), so ergibt sich nach oraler und intraperitonealer Applikation lyophilisierter Zellsuspensionen von Anabaena flos-aquae NRC-44-1 folgende Tabelle:

Tab. 12 aus Carmichael und Biggs, 1978

Orale und Intraperitoneale LD_{90} (mg/kg) lyophilisierter wässriger Zellsuspensionen von Anabaena flos-aquae NRC-44-1

	Mäuse	Ratten	Küken	Stockenten	Ring-Fasan	Goldfisch
oral	1800	1500	-	350	850	120
intraperitoneal	60	60	50	50	120	60
oral/intraperitoneal				7,0	7,1	2,0

Aus Tab. 12 wird deutlich, daß nach oraler Applikation der Zellsuspensionen Goldfische am empfindlichsten reagieren. Stockenten reagieren ca. 2,5-mal so emfindlich wie Fasane, während Mäuse und Ratten am unempfindlichsten sind. Nach intraperitonealer Applikation reagieren fast alle Spezies gleich empfindlich. Nur der Ring-Fasan reagiert nach dieser Applikationsart nur halb so empfindlich auf das toxische Mate-

rial. Diese geringere Empfindlichkeit beruht nicht auf Unterschiede der metabolischen Vorgänge bzw. der Adsorbtion des Toxins, sondern auf eine geringere Muskel-Sensibilität. Vergleicht man die nervalen Reaktionen von Anatoxin-a und Dekamethonium am Ischiasnerv des Ring-Fasans und der Stockente, so sieht man deutlich, daß Dekamethonium nahezu bei beiden Spezies gleich wirkt, während Anatoxin-a beim Ring-Fasan ca. dreimal weniger potent ist (s. Fig. 23 A + B).

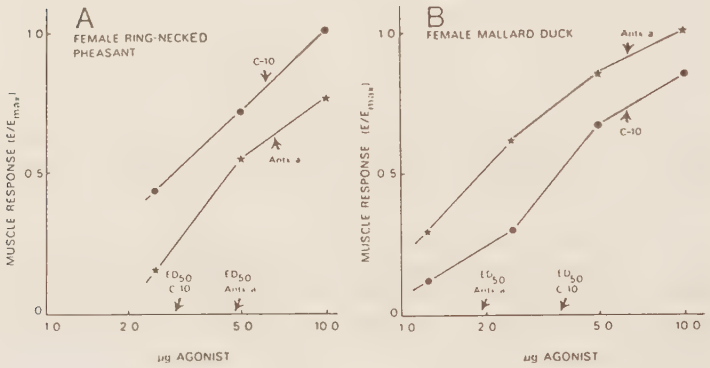


Fig. 23 aus Carmichael und Biggs, 1978

A: Dosis-Reizantwortkurven von Dekamethonium (C-10) und Anatoxin-a (Antx-a) am Ischiasnerv des Ring-Fasans

B: Dosis-Reizantwortkurven von Dekamethonium (C-10) und Anatoxin-a (Antx-a) am Ischiasnerv der Stockente

Anatoxin-a wird von Goldfischen über den Kiemenapparat nicht absorbiert, so daß sie von dem Toxin nicht affektiert werden, so lange sie es nicht oral aufnehmen (C a r m i c h a e l und B i g g s , 1978).

Durch die Nahrungsaufnahme bzw. durch das Aufnehmen von Trinkwasser an offenen Wasserstellen kann Anatoxin-a in tödlichen Konzentrationen während eines einzigen Trinkvorgangs aufgenommen werden. Fig. 24 zeigt einige Volumina (ml einer 20 mg Trockenmasse/ml Anabaena flos-aquae-Blüte; ml/kg Körpergewicht einer Anabaena flos-aquae-Blüte), die nach oraler Aufnahme zum Tod von Goldfischen, Enten, Kälbern, Fasanen, Ratten und Mäusen führt (Carmichael und Gorham, 1977).

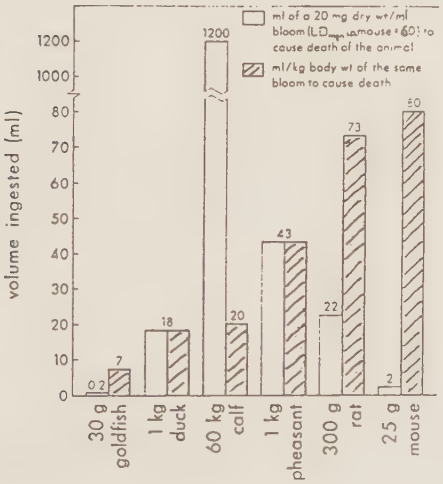


Fig. 24 aus Carmichael und Gorham, 1977

Verschiedene Volumina von Anabaena flos-aquae NRC-44-1 (20 mg Trockenmasse/ml), die nach oraler Aufnahme bei den genannten Tierarten zum Tod führen

Vor allem Rinder sind durch die Aufnahme der Toxine von Anabaena flos-aquae beim Tränken an offenen Wasserstellen sehr gefährdet. Aus diesem Grunde ist es von großer Bedeutung, Anzeichen von Vergiftungen mit diesen Toxinen und die oral minimal letale Dosis genauer zu kennen. Erhält ein 6 Wochen altes männliches Black Angus-Kalb (Gewicht = 73 kg), das seit 2 Wochen entwöhnt ist (Pansenflora-Aufbau), per Nasenschlundsonde 120 g lyophilisierte Anabaena flos-aquae Zellen vom Stamm NRC-44-1, so entspricht diese Dosis 1644 mg/kg. Nach vier Minuten treten bei diesem Kalb Stumpfsinnigkeit, Konvulsionen, Muskelfaszikulation und schließlich Zusammenbrechen mit Atemstillstand auf. Durch künstliche Beatmung kehren Pulsschlag, Blutdruck, Blutgase und pH-Wert in nahezu physiologische Bereiche zurück. Durch Applikation einer Anticholinesterase (Ethrophonium chlorid) kann kein antagonistischer Effekt erreicht werden. Die oral letale Dosis für Rinder beträgt 360 - 480 mg lyophilisierter Anabaena flos-aquae NRC-44-1-Zellen/kg Körpergewicht (C a r m i c h a e l et al., 1977).
Geht man davon aus, daß in einem durch Wind konzentrierten Algenrasen von Anabaena flos-aquae NRC-44-1 20 mg Trockenmasse/ml enthalten sind, so reichen 1080 -1440 ml eines derartigen Algenrasens aus, um ein 60 kg schweres Rind nach oraler Aufnahme dieser Menge zu töten (C a r m i c h a e l et al., 1977).

Studien der Anatoxine-b, -c, -d, -a(s) und -b(s) zeigen, daß es sich bei Anatoxin-c sehr wahrscheinlich um ein Peptidtoxin handelt. Der LD_{90}-Wert dieses Toxins ist 60 mg lyophilisierter Algenzellen/kg Maus (i.p.) mit einer Überlebenszeit von 1-2 Stunden. Anatoxin-d ist ca. 6-mal so toxisch wie Anatoxin-c. Es

besitzt einen LD_{90}-Wert von 10 mg lyophilisierter Algenzellen/kg Maus (i.p.). Anatoxin-a(s) vom Stamm NRC-525-17 weist nach Intoxikation bei Tieren folgende Symptome auf: Salivation, blutiger Tränenfluß, faszikuläre Muskelzuckungen, Konvulsionen und Atemstillstand. Mäuse, die unterschiedliche Dosierungen dieses Toxins injiziert (i.p.) bekommen, sterben innerhalb von 3 - 20 Minuten (s. Fig. 25) (Carmichael und Gorham, 1978, 1980; Carmichael und Mahmood, 1984).

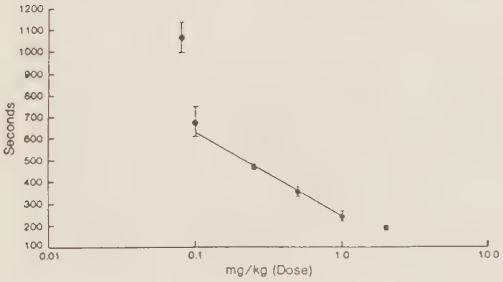


Fig. 25 aus Mahmood und Carmichael, 1986b

Dosis: Überlebenszeit-Kurve von Mäusen, die unterschiedliche Dosierungen (mg/kg) von Anatoxin-a(s) erhalten

Der LD_{50}-Wert des aufgereinigten Anatoxin-a(s) beträgt 40 - 60 ug/kg Maus (i.p.) bei einer Überlebenszeit von 30 Minuten (Mahmood und Carmichael, 1986b). Anatoxin-a(s) wirkt wie eine Anticholinesterase, d.h. Ratten, die mit diesem Toxin injiziert werden, zeigen die typischen Vergiftungserscheinungen einer Anticholinesterase-Intoxikation.

Untersucht man das Blutbild von Ratten, die Anatoxin-a(s) in unterschiedlichen Dosierungen injiziert bekommen (i.p.), so beträgt die Acetylcholinesterase-Aktivität bei einer Dosis von 0,25 mg/kg Ratte nur noch 18 % und bei einer Dosis von 0,5 mg/kg Ratte ist keine Aktivität der Acetylcholinesterase mehr aufzuweisen (s. Tab. 13).

Tab. 13 aus Mahmood und Carmichael, 1987

Hemmung der Acetylcholinesterase (AChE) im Rattenblut durch Anatoxin-a(s) (Antx-a(s))

Dosis Antx-a(s) (mg/kg i.p.)	AChE-Aktivität (Mol)	Aktivität (%)
Kontrolle	$0,93 +/- 0,16 \times 10^{-16}$	100
0,1	$0,89 +/- 0,15 \times 10^{-16}$	96
0,25	$0,17 +/- 0,03 \times 10^{-16}$	18
0,5	keine Aktivität	0
1,0	" "	0

Blutproben wurden 5 Min. nach i.p. Injektion genommen

Ratten zeigen nach diesem Versuch die typischen Vergiftungserscheinungen einer Anticholinesterase-Intoxikation (Mahmood und Carmichael, 1987). Vergleicht man die Auswirkung von Anatoxin-a (s) auf die Acetylcholinesterase und die Butyrylcholinesterase, so erkennt man deutlich, daß die Acetylcholinesterase stärker von diesem Toxin affektiert wird als die Blutyrylcholinesterase (s. Fig. 26.).

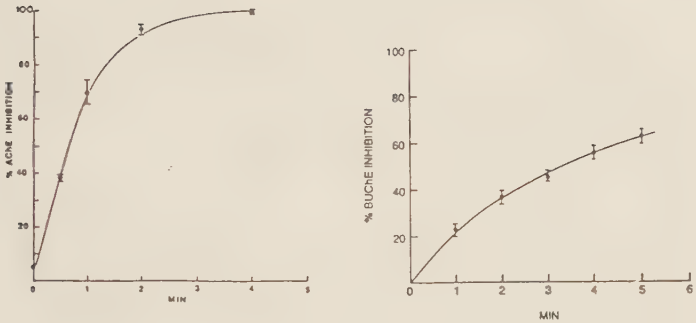


Fig. 26 aus Mahmood und Carmichael, 1987

Fig. 26 zeigt deutlich, daß bereits nach 3 Minuten die Acetylcholinesterase vollständig gehemmt wird, während die Butyrylcholinesterase nach 5 Minuten nur zu 60 % gehemmt wird. Die Wirkung von Anatoxin-a(s) ist zeit- und konzentrationsabhängig (s. Fig. 27).

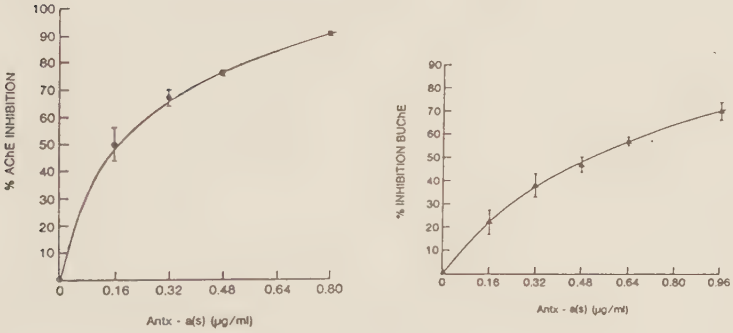


Fig. 27 aus Mahmood und Carmichael, 1987

Acetylcholinesterase wird bei einer Konzentration von 0,8 ug Toxin/ml zu 90 % gehemmt. Butyrylcholinesterase wird bei dieser Konzentration nur zu 65 % gehemmt (s. Fig. 27). Aus diesen Ergebnissen wird deutlich, daß Anatoxin-a(s) spezifisch auf die Acetylcholinesterase wirkt (Mahmood und Carmichael, 1987; Carmichael, 1982a).

Toxizitätstests mit Labortieren (Mäuse) zeigen, daß Anatoxin-a(s) das cholinergische Nervensystem stimuliert und die Intoxikationssymptome bei Tieren ähnlich einer Anticholinesterase-Vergiftung sind. Die Anregung des cholinergischen Nervensystems wird durch die hervorgerufene Salivation vom viskösen Typ unterstrichen.

Wird Atropin-Sulfat (50 mg/kg) 15 Minuten vor einer Anatoxin-a(s) Injektion (i.p.) Mäusen injiziert, so werden die Symptome Salivation, Lakrimation und Urininkontinenz aufgehoben. Die Symptome Faszikulationen, Konvulsionen und schließlich Atemstillstand bleiben erhalten. Die Überlebenszeit von mit Atropin-Sulfat vorbehandelten Mäusen ist verlängert (s. Tab. 14).

Tab. 14 aus Mahmood und Carmichael, 1986b

Antagonismus parasympathischer Auswirkungen von Anatoxin-a(s) bei Mäusen

Behandlung	Anzahl behandelter Mäuse	Anzahl Mäuse, die starben	Überlebens-Zeit (Sek.)
Anatoxin-a(s) (0,5 mg/kg)	4	4	348 +/- 23
Anatoxin-a(s) (0,5 mg/kg) + Atropin-Sulfat (50 mg/kg)	4	4*	452 +/- 47
Anatoxin-a(s) (1,0 mg/kg)	4	4	239 +/- 21
Anatoxin-a(s) (1,0 mg/kg) + Atropin-Sulfat (50 mg/kg)	4	4*	305 +/- 14

* = Salivation, Lakrimation und Urininkontinenz werden nicht beobachtet

(Atropin-Sulfat wurde 15 Min. vor Anatoxin-a(s) gegeben)

Dadurch, daß die parasympatomimetischen Symptome durch Atropin-Sulfat aufgehoben werden, die Symptome Faszikulationen, Konvulsionen und Atemstillstand aber erhalten bleiben, sieht man, daß nicht ausschließlich die muskarinen Rezeptoren vom Toxin aktiviert werden (Mahmood und Carmichael, 1986b).

6.5. Physikalisch-chemische Eigenschaften des Toxins von Aphanizomenon flos-aquae (Aphantoxin)

Die physiologischen Auswirkungen der Aphantoxine sind gleich bzw. ähnlich derer wie man sie bei einer Saxitoxin-Vergiftung durch Gonyaulax-Spezies (Paralytic Shellfish Poison, PSP) kennt. Die Toxine von Aphanizomenon flos-aquae setzen sich aus folgenden Toxinen zusammen: Saxitoxin, Neo-Saxitoxin, Aphantoxin I, Aphantoxin II und Aphantoxin III (Sasner et al., 1984; Mahmood und Carmichael, 1986a). Der Anteil an Neo-Saxitoxin beträgt ca. 80 %, der von Saxitoxin ca. 15 % (Ikawa et al., 1981, 1982, 1985).
Die Toxine von Aphanizomenon flos-aquae sind in Wasser, Methanol und Äthanol löslich. Im Alkalischen zerfallen sie, während sie in Säure, Licht und Hitze stabil sind (Mahmood und Carmichael, 1986a; Carmichael, 1986c).

6.6. Strukturanalysen der Aphantoxine

Da die Toxine von Aphanizomenon flos-aquae zu einem großen Teil aus Neo-Saxitoxin und Saxitoxin bestehen, ergibt sich für diese Toxine folgende Strukturformel:
Neo-Saxitoxin = $C_{10}H_{17}N_7O_5$ mit einem Molekulargewicht von 352 Dalton
Saxitoxin = $C_{10}H_{17}N_7O_4$ mit einem Molekulargewicht von 336 Dalton.
Aus diesem ergibt sich folgende Struktur (Mahmood und Carmichael, 1986a; Carmichael, 1986c; Shimizu et al., 1984):

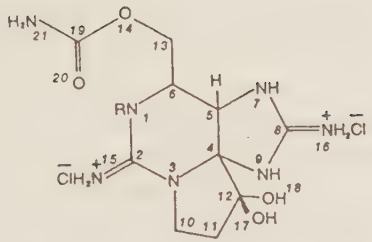


Fig. 28 aus Carmichael, 1986c

Struktur der Toxine:

Neosaxitoxin - R = H
Saxitoxin - R = OH

aus Aphanizomenon flos-aquae

6.7. Pharmakologie und Toxizität der Aphantoxine

Die Wasserblüten von Aphanizomenon flos-aquae verursachen oft Weidetier-Intoxikationen. Die Toxine dieser Alge sind Verbindungen, die ähnlich wirken wir Saxitoxin aus Gonyaulax-Arten (K r e m e r , 1981). Sie verhindern an der spannungsabhängigen Na-Kanal erregbaren Membran die Na-Ionen Leitfähigkeit in der frühen Phase der Erregung. Durch diese Permeabilitätsblockade des Na-Einstroms an der postsynaptischen Membran wird eine Membran-Depolarisation verhindert. Die Repolarisations-Phase (Kalium-abhängig) wird von den Toxinen nicht beeinflußt (A d e l m a n et al., 1982). Die Wirkung der Aphantoxine ist dosisabhängig.

Werden Süßwassermuscheln zusammen mit Aphanizomenon flos-aquae in einen Behälter gegeben, so sieht man bei diesen Muscheln nach 2 Tagen ähnliche Symptome wie bei Salzwassermuscheln nach einer Saxitoxin-Intoxikation: schlaffe Paralyse des Fußes. Überführt man diese Muscheln in ein sauberes Medium (frei von Aphanizomenon flos-aquae), so verschwindet dieses Symptom nach einiger Zeit. Im Darminhalt dieser Muscheln findet man einen großen Teil aufgebrochener Aphanizomenon flos-aquae Zellen (S a s n e r et al., 1981).

Wird Daphnia magna mit Aphanizomenon flos-aquae in einen Behälter gegeben, so werden innerhalb weniger Minuten die charakteristischen Fühlerbewegungen (Antennen) reduziert und nach einiger Zeit völlig blokkiert. Die Tiere sinken dann auf den Gefäßboden und gehen dort innerhalb von 24 Stunden zugrunde. Sammelt man diese auf dem Boden liegenden Tiere nach 12 - 16 Stunden ein und überführt sie in sauberes Wasser (frei von Aphanizomenon flos-aquae), so erholen sie sich innerhalb der nächsten 24 Stunden. Die Effekte des Toxins sind reversibel und abhängig von der Inkubationszeit des Toxins (S a s n e r et al., 1984).
Mißt man die isometrische Spannung am Froschmuskel (Muskulus sartorius), der mit 50 ug Aphantoxin/ml inkubiert wird, so zeigt sich durch Stimulierung mit dem Toxin am Nerven eine schnellere Reizantwort als bei Stimulierung am Muskel. Nerven reagieren somit sensibler auf das Toxin bzw. Muskeln besitzen eine größere Diffusionsbarriere (A l a m et al., 1978; S a s n e r et al., 1981). Wird dieser Froschmuskel nach Toxineinwirkung mit Ringer-Lösung abgewachsen, so läßt die Toxinwirkung auf den Muskel in wenigen Minuten nach.

Vergleicht man die Reaktionen myogener Herzen von Amphibien und Muscheln und neurogener Herzen von Krebsen, die mit Tetrodotoxin, Saxitoxin und Aphantoxin (4 ug/ml) inkubiert werden, so weisen die Herzen von Krebsen eine reversible diastolische Hemmung auf, während die Herzen von Amphibien und Muscheln weder in der mechanischen noch elektrischen Aktivität beeinflußt werden (A l a m und E u l e r , 1981; S a s n e r et al., 1981; A l a m et al., 1973).

Werden Süßwassermuscheln (Elliptio camplanatus, Carbicula fluminea) in Behältern mit Aphanizomenon flos-aquae gehalten, so nehmen diese Muscheln Zellen dieser Algen auf, und die aus diesen Zellen austretenden Toxine gelangen ins Muschelfleisch. Bietet man Mäusen dieses Muschelfleisch als Nahrung an, so zeigen diese Tiere nach Aufnahme dieses Muschelfleisches die Symptome einer Saxitoxin-Intoxikation: Koordinationsverlust, unregelmäßige Atmung, spastische Zuckungen, Aufsperren des Maules und schließlich Tod durch Atemstillstand (C a r m i c h a e l , 1986c; S a s n e r et al., 1984).
Toxizitätsbestimmungen an Mäusen ergeben: LD_{50} (i.p. Maus) lyophilisierter Aphanizomenon flos-aquae-Zellen = 5 mg/kg Maus. LD_{50} des aufgereinigten Toxins = 10 ug/kg Maus (M a h m o o d und C a r m i c h a e l, 1986a; C a r m i c h a e l , 1986c).

7. Toxizität von Blaualgentoxinen (Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae) für den Menschen

Über Erkrankungen beim Menschen ist folgendes bekannt:
Bei 12 Kindern und einem Erwachsenen, die in einem in Nord-Ost-Pennsylvania gelegenem See gebadet hatten, traten einige Stunden später folgende Symptome auf: Kopfschmerz, Magenkrämpfe, Übelkeit, Erbrechen, Diarrhö, Fieber, Hautausschlag, rauher und roter Rachen, Ohrenschmerz, Augenirritation, geschwollene Lippen (B i l l i n g s , 1981). Aus Australien wurde von einer Epidemie bei Kindern und Jugendlichen berichtet, die an Leberentzündungen mit gastrointestinalen Begleiterscheinungen erkrankten. Diese Personen hatten Leitungswasser aufgenommen, das aus einem See stammte, der einige Zeit zuvor mit Kupfersulfat behandelt wurde, um die in diesem See aufgetretenen Algen zu vernichten. Durch die Kupfersulfatbehandlung wurden die Algenzellen zerstört und die ausgetretenen Toxine gelangten über das Rohrleitungssystem in die Haushalte des erkrankten Personenkreises (B o u r k e et al., 1983). Auch verschiedene Formen von Dermatitiden sind durch die Aufnahme bzw. den Kontakt mit Blaualgen-Toxinen aufgetreten (A z i z , 1974; H i n d m a n et al., 1975).

8. Kontrolle und Verhütung gegen zu starke Vermehrung toxischer Süßwasserblaualgen

Die sicherste Methode Weidevieh vor einer Intoxikation mit toxischen Blaualgen zu schützen, ist das Fernhalten dieser Tiere von kontaminierten Teichen, Tümpeln und Wasserstellen. Dazu ist es erforderlich, die Wasserstellen, die von toxischen Blaualgen besiedelt werden, ständig zu überprüfen. Da es schwer ist zu entscheiden, ob eine Algenart auf der Oberfläche eines Sees toxisch oder nicht-toxisch ist, ist es sinnvoll Proben einzusammeln und diese im Labor auf ihre Toxizität untersuchen zu lassen. Auch können Barrieren auf der Wasseroberfläche angebracht werden, die ein starkes Zusammentreiben der Algen durch den Wind verhindern (Carmichael und Schwartz, 1984).

Um das Algenwachstum zu kontrollieren bzw. einzudämmen, können verschiedene Algizide eingesetzt werden. Bei Verwendung von Kupfersulfalt ist es von großer Bedeutung die chemische Zusammensetzung eines Gewässers genau zu kennen. Physikalisch-chemische Prozesse, wie Chelatbildung, Adsorption und Niederschlag können die Wirkung von Kupfersulfat in Gewässern entscheidend beeinflussen (Clarke et al., 1987; Gibson, 1972). Entscheidend ist auch, daß rechtzeitig, d.h. vor Entstehen einer massiven Algenblüte Kupfersulfat zum Einsatz kommt (Mc Knight et al., 1983). Kupfersulfat hat den Vorteil, daß es relativ gering toxisch auf höhere Organismen, vor allem Fische, wirkt, wenn es in adäquater Dosierung angewandt wird. Zum anderen ist es relativ kostengünstig. Es bleibt nicht lange in Lösung, sondern präzipidiert in kurzer

Zeit und setzt sich am Seegrund ab, so daß es zu keiner Akkumulation in Wasserorganismen kommen kann (E l d e r und H o r n e , 1978).

Kupfersulfat kann in sehr niedrigen Dosierungen (2-5 ug/l) das Wachstum von Algen stimulieren, da Algen Kupfer in niedrigen Konzentrationen zum Wachstum benötigen (W u r t s b a u g h und H o r n e , 1982). Bereits bei Konzentrationen von 5-10 ug Kupferionen/l wird das Wachstum von Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae unterdrückt. Die Algen sind dann nicht mehr in der Lage Stickstoff zu binden (H o r n e und G o l d m a n , 1974). Bei Konzentrationen von 25-40 ug Kupferionen/l wird das Algenwachstum für 2-3 Wochen reduziert (W h i t a k e r et al., 1978).
Microcystis aeruginosa ist im Laufe einer Kupfersulfat-Behandlung fähig detoxifizierende Stoffe zu synthetisieren, die die Algen mit der Zeit gegenüber Kupferionen unempfindlich machen. Bei den detoxifizierenden Stoffen handelt es sich um Polypeptide und Polyhydroxamate, die mit Kupfersulfat Chelate bilden. In einem Versuch mußte die Konzentration an Kupferionen von 23 ug/l auf 85 ug/l erhöht werden, um noch eine Effektivität auf Microcystis aeruginosa auszuüben (B e r t r u et al., 1986; V e r h o e v e n und E l o f f , 1978).
Auch Herbizide können zur Kontrolle von Blaualgen eingesetzt werden. Die Herbizitmischung Amitrol-Dalapon reduziert das Wachstum von Anabaena flos-aquae stark. Die Auswirkungen, die diese Herbizidmischung auf Anabaena flos-aquae besitzt, beruht auf einer Unterdrükkung der Pigmentsynthese (K o b b i a et al., 1987).

II. Diskussion

Zu den toxischen Süßwasserblaualgen gehören Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae. Diese Arten können unter günstigen Bedingungen einen dichten Algenrasen bilden, der massiv toxisches Material enthält. Vor allem für Wild und Haustiere stellen mit diesen Algen kontaminierte Gewässer große Gefahrenquellen dar, wenn sie diese als Tränken benutzen (Carmichael, 1981; Carmichael und Mahmood, 1984; Carmichael und Schwartz, 1984). In den Ländern Süd-Afrikas tritt alljährlich massenhaft Tiersterben auf, so daß große wirtschaftliche Verluste entstehen.

Aus diesem Grunde ist es von großer Bedeutung, Faktoren zu kennen, die das Wachstum dieser toxischen Algen begünstigen. Die in dieser Studie untersuchten Spezies Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae haben die Fähigkeit an die Wasseroberfläche aufzutreiben und so sogenannte "Wasserblüten" zu bilden (Lehmann und Wienke, 1980). Wenn die Algen gleichmäßig im Wasser verteilt wären, würden die von Tieren aufgenommenen Algenmengen in den meisten Fällen so gering sein, daß keine Intoxikationen aufträten. Für diese Schwebefähigkeit im Wasser sind Gasvakuolen verantwortlich, die charakteristische zylinderförmige Strukturen besitzen (Walsby, 1975). Unter ungünstigen Umwelt- und Witterungsbedingungen werden deshalb diese Algen in die Lage versetzt, solange in für das Wachstum günstigere Wasserschichten auszuweichen, bis sich die Bedingungen an der Wasseroberfläche für optimales

Wachstum verbessert haben. Genauere Kenntnisse derartiger Regulationsmechanismen könnten dazu beitragen, daß plötzliche und massenhafte Auftreten dieser Algen zu erkennen. Farmer hätten so die Möglichkeit, ihr Weidevieh rechtzeitig von derartig kontaminierten Wasserstellen fernzuhalten.
Die Fähigkeit längere Zeit unter aphotischen und anaeroben Bedingungen sowie bei relativ niedrigen pH-Werten zu überleben, erfordert genauere biochemische Untersuchungen (Z o h a r y , 1985). Eine Anpassung an ungünstige Wachstumsbedingungen, vor allem in der Überwinterungsphase durch Erhöhung der photosynthetischen Pigmente, ist Voraussetzung für das Auftreten einer riesigen Population dieser Algen im Frühjahr. Es müssen Chemorezeptoren vorhanden sein, die diesen Algen die jeweiligen Umweltverhältnisse übermitteln.

Zu Erkrankungen beim Menschen kommt es vor allem durch die nach Lysis der Algenzellen frei im Wasser gelösten Toxine. Eine Lysis der Algenzelle kann auf unterschiedliche Weise eintreten: Autolyse, Zerstörung durch Zooplankton, Bakterien, mechanische Einwirkungen (z.B. Rohrleitungen) und altersbedingte Auflösung (D a f t et al., 1975; B e r g et al., 1987b). Durch Kontakt mit diesen Toxinen beim Schwimmen oder Baden kommt es zu verschiedenen Irritationen der Haut und Schleimhäute. Aber auch durch Aufnahme von Trinkwasser treten immer wieder Intoxikationen beim Menschen auf (B o u r k e et al., 1983; A z i z , 1974; H i n d m a n et al., 1975; B i l l i n g s , 1981). Da die Toxine von Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae sehr feinporige Filtereinrichtungen passieren können, gelangen sie durch Rohrleitungen in menschliche Haushalte. Aus die-

sem Grunde ist es erforderlich, Verfahren zu entwikkeln, die eine Eliminierung dieser Toxine gewährleisten. Die Übersicht auf der folgenden Seite zeigt einige Intoxikationen beim Menschen und ihre Symptome, die durch Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae hervorgerufen wurden.
Die meisten Erkrankungen traten bei Kindern und Jugendlichen auf, die beim Schwimmen bzw. Ausüben verschiedener Wassersportarten mit diesen Algen in Berührung kamen bzw. toxisches Algenmaterial oral aufnahmen.

Übersicht einiger Intoxikationen durch Süßwasserblaualgen der Spezies Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae beim Menschen

Spezies	Jahr	Toxizität (i.p.Maus) mg/kg	Ort	Symptome
Anabaena flos-aquae	1977	LD_{50} ca. 10	Montana, USA	Kopfschmerzen, Nausea, Magenkrämpfe, Erbrechen, Diarrhö, Fieber, rauher und geröteter Rachen, Ohrenschmerzen, Augenirritationen (Konjunktivitis)
"	1978	nicht bestimmt	Stroudsburg, USA	
"	1979	nicht bestimmt	Stroudsburg, USA	
"	1980	LD_{90} ca. 25	Montana, USA	
"	1981	LD_{50} = 125	Wilkes-Barre, USA	
Aphanizomenon flos-aquae	1980	LD_{50} = 500	Sparks, Nevada	Rötung der Haut, Augenirritationen, Schwindelgefühl, Hautjucken, Dermatitis

In einem Gewässer treten stets mehrere toxische Algen-Spezies gemeinsam auf, so daß es auch zu unterschiedlichen Vergiftungserscheinungen und Überlebenszeiten von Tieren kommt. Die Polypeptidtoxine von Microcystis aeruginosa führen nicht so rasch zum Tod wie die Neurotoxine von Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae. Die Toxine von Microcystis aeruginosa verursachen am häufigsten Vergiftungen bei Tieren (Carmichael et al., 1985; Skulberg et al., 1984). Ratten und Mäuse, die intraperitoneal (i.p.) mit diesen Toxinen injiziert werden, sterben innerhalb von 1 - 2 Stunden. Bei der Autopsie fällt eine stark vergrößerte und mit Blut gefüllte Leber auf. Das Lebergewicht ist erhöht (Slatkin et al., 1983; Falconer et al., 1981; Theiss und Carmichael, 1986). Histologische Untersuchungen der Leber weisen zentrilobuläre, hämorrhagische Nekrosen mit starker Deformierung der Hepatozyten auf (Runnegar et al., 1981a). Darm, Herz, Milz, Nieren und Magen zeigen keine auffälligen Veränderungen. Die Lunge ist leicht ödematös und man erkennt kleine Mikrothromben, die nicht dem Endothel anhaften (Slatkin et al., 1983). Die schnelle und fast vollständige Aufnahme des Toxins in die Leber weist auf einen Transportmechanismus hin, der zur Zeit noch nicht vollständig geklärt ist. Vermutet wird, daß das Toxin den gleichen Carrier bzw. Transportmechanismus in die Leber benutzt wie die Gallensäure (Runnegar und Falconer, 1982b).

Durch in vitro Untersuchungen an Organen von Lunge, Zervix, Ovarien und Nieren konnte aufgezeigt werden, daß das Microcystis Toxin nicht ausschließlich die Le-

berzellen schädigt (G r a b o w et al., 1982). Daraus kann man vermuten, daß das Toxin in der Leber so stark gebunden wird, daß andere Organe nicht mehr affektiert werden.
Durch den direkten Transport des Toxins in die Leber, werden in den Hepatozyten große Mengen Toxin absorbiert. Wie das Toxin an die Leberzellen gebunden wird, ist zur Zeit noch nicht geklärt. In Versuchen mit radioaktiv markiertem Toxin von Microcystis aeruginosa konnte aufgezeigt werden, daß der Anteil an Toxin in der Leber mit der Zeit ansteigt, während er in anderen Organen abfällt (B r o o k s und C o d d , 1987). Dieses deutet darauf hin, daß das Toxin bei jeder Zirkulationsphase durch die Leber erneut in den Hepatozyten gebunden wird. Über metabolische Prozesse des Toxins sind keine genaueren Kenntnisse vorhanden.
Die in der Lunge auftretenden Thromben sind Proteinzerfallsprodukte der zerstörten Hepatozyten. Diese Lungenthromben verursachen einen Blutdruckanstieg im Lungenkapillarbett und verursachen Herzversagen. Andererseits kommt es durch den großen Blutverlust in der Leber zum hypovolämischen Schock (T h e i s s und C a r m i c h a e l , 1986).
Es wird berichtet, daß das Toxin von Microcystis aeruginosa Erythrozyten agglutiniert (C a r m i c h a e l und B e n t , 1981). Andererseits berichten R u n n e g a r und F a l c o n e r (1982), daß Erythrozyten nicht vom Toxin agglutiniert werden. Aufgrund dieser unterschiedlichen Aussagen sind weitere Studien erforderlich, die die genaue Wirkung des Toxins ergründen.

Untersuchungen über Auswirkungen des Toxin auf den Blutdruck von Ratten und Mäusen nach i.v. Injektion zeigen, daß der Blutdruck zunächst steil abfällt, dann in den nächsten Minuten auf normale Werte ansteigt und schließlich solange sinkt, bis die Tiere an hämorrhagischem Schock sterben. Durch die Zerstörung der Hepatozyten und der inneren Struktur des Lebergerüstes tritt ein massiver Blutverlust ein.
Der anfangs steile Abfall des Blutdruckes nach i.v. Injektion könnte auf direkte Wirkung des Toxins am Herzen zurückgeführt werden, während der anschließende permanente Abfall auf eine Zerstörung der Hepatozyten beruhen muß.

Das Toxin von Microcystis aeruginosa schädigt die Hepatozyten von jungen Mäusen und Ratten nicht (F o x a l l und S a s n e r , 1981). Dies deutet meiner Meinung nach darauf hin, daß die Leber erst als funktionsfähiges Organ (bei Mäusen ab einem Alter von ca. 20 Tagen) vom Toxin affektiert wird. Daß weibliche Mäuse empfindlicher auf das Toxin als männliche Mäuse reagieren, könnte auf hormonellen Einfluß beruhen.

Die Alkaloid-Toxine von Anabaena flos-aque und Aphanizomenon flos-aquae sind sehr schnell wirkende Gifte. Als Neurotoxine verursachen sie Paralyse der Skelett- und Atemmuskulatur mit dadurch bedingtem Atemstillstand und Tod. Verschiedene Stämme von Anabaena flos-aquae produzieren Toxine, die unterschiedlich toxisch sind (C a r m i c h a e l und B i g g s , 1978; C a r m i c h a e l et al., 1977). Anatoxin-a ist das einzige Alkaloid-Toxin dieser Gruppe, das genauer analysiert wurde. Es ist eine stark depolarisierend,

neuromuskulär blockierende Substanz (S p i v a k et al., 1980). Verschiedene Tierarten reagieren unterschiedlich empfindlich auf die Toxine von Anabaena flos-aquae (C a r m i c h a e l et al., 1977). Dieses kann daraus resultieren, daß bei den Untersuchungen zum einen keine äquivalenten Versuchsanordnungen bestanden, und zum anderen die Muskelsensibilität der Tierarten unterschiedlich ist. Da die Toxine von Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae schnell zum Tod führen, müssen die Zellen dieser Algen nach oraler Aufnahme durch die Magensäure so rasch zerstört werden, daß die Toxine sofort in den Blutkreislauf übertreten können. Toxine von Aphanizomenon flos-aquae sind Neurotoxine, die ähnlich wirken wie Saxitoxin aus Gonyaulax Spezies (S a s n e r et al., 1981).

Die Strukturen der Toxine von Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae sind nur zum Teil bekannt. Aus diesem Grunde ist es auch nicht möglich, die Toxine zu synthetisieren oder Substanzen zu entwickeln, die in das Strukturgerüst dieser Toxine eingreifen könnten. Die folgende Übersicht gibt eine Zusammenfassung der zur Zeit vorliegenden Kenntnisse dieser Toxine wieder:

	Toxin	Todeseintritt[1] (Zeit) nach Toxinaufnahme (oral)	Symptome[2]	Patholog. Veränd.
Microcystis aeruginosa	Polypeptid Mol.-Gew. = ca. 904 - 1044 Dalton	30 Min.-24 Std.	Schwäche, Nausea, Erbrechen, Schluckbewegungen, Salivation, Augentränen, starker Durst, blutdurchsetzter fester Kot, Diarrhö, struppiges Fell, lethargisch, aufgetriebenes Abdomen, Ikterus, Schock, kalte Extremitäten, Anämie, Blässe, schwacher frequenter Puls, Herzversagen	Blut im Gastrointestinaltrakt Niere: z.T. nekrotisches Gewebe, geschwollen, Hämorrhagien Leber: stark vergrößert, geschwollen, dunkelrot verfärbt, fleckig, z.T. nekrotisches Gewebe, Strukturverlust, zerstörte Hepatozyten, Lunge: multifokale, vaskuläre Thromben, die nicht dem Endothel anhaften, Herz: dilatiert, blutgefüllt, Hämorrhagien
Anabaena flos-aquae Aphanizomenon flos-aquae (Saxitoxin, Neosaxitoxin, Aphantoxin I, II, III)	Alkaloid Mol.-Gew. = 166 Dalton Alkaloid	4 - 30 Min.	Muskelzittern, Benommenheit Schwanken, Kollaps, Berührungsempfindlichkeit, Konvulsionen, Muskelzuckungen,	keine spezifischen Anzeichen bei Todeseintritt nach 4 - 10 Min.; bei Todeseintritt nach 15 - 30 Min. = Blutstauung im Gehirn; Lungen mit Flüssigkeit gefüllt

1) = Die Überlebenszeit hängt von der Menge aufgenommenen Toxins ab. Je größer die Dosis, je schneller der Todeseintritt.

2) = Symptome beziehen sich auf alle Tierspezies. Unter den einzelnen Tierspezies gibt es Abweichungen

	Stamm	Toxin	Struktur	LD_{50} (i.p.Maus) aufgereinigtes Toxin
Microcystis aeruginosa				
	NRC-1	Microcystin	unbekannt	50 ug/kg
Anabaena flos-aquae				
	NRC-44-1	Anatoxin-a	$C_{10}H_{15}NO$	200 ug/kg
	NRC-525-17-b-1-e	Anatoxin-a(s)	unbekannt	0,50 mg/kg
	A-52-5-n-e-7-1-2-j	Anatoxin-b	unbekannt	-
	S-UTH-1	Anatoxin-b(s)	unbekannt	-
	A-113-9-q-2	Anatoxin-c	unbekannt	LD_{90} (i.p.Maus)=60 mg/kg
	S-23-g	Anatoxin-d	unbekannt	LD_{90} (i.p.Maus)=10 mg/kg
Aphanizomenon flos-aquae				
	NH-1	Aphantoxin	unbekannt	10 ug/kg
	NH-5	80 % = Neo-Saxitoxin	$C_{10}H_{17}N_7O_5$	10 ug/kg
		15 % = Saxitoxin	$C_{10}H_{17}N_7O_4$	10 ug/kg

Die zur Zeit häufigste Untersuchungsmethode zur Bestimmung der Toxizität dieser Toxine ist der Mäusetoxizitätstest. Es ist ein qualitativer Test, der bei Mäusen die für das jeweilige Toxin typischen Symptome auslöst. Der Mäusetoxizitätstest erfordert eine große Anzahl von Tieren, die unter besonderen Bedingungen (Tierschutzgesetz) gehalten werden müssen. Aus diesem Grunde ist er sehr aufwendig und erfordert viel Zeit und Unkosten. Es wäre deshalb wünschenswert, Testverfahren zu entwickeln, die vor allem schneller und kostengünstiger sind. B e r g und A u n e (1987) entwickelten ein Verfahren, in dem sie frisch präparierte Hepatozyten zum Nachweis der Toxizität von Microcystis aeruginosa benutzten. Sie sind ein empfindlicher Indikator und reagieren bereits auf kleinste Mengen des Toxins (ug/l). Durch Zerstörung der Plasmamembran der Zellen und den dadurch bedingten Permeabilitätsverlust der Zelle, treten Enzyme ins Medium, die zusätzlich bestimmt werden können (A u n e und B e r g , 1986). Da die Leber Hauptzielorgan des Toxins von Microcystis aeruginosa ist, bieten sich frisch isolierte Hepatozyten an, um in vitro Studien und Toxizitätsbestimmungen durchführen zu können. Mit der Trypan-blau Anfärbetechnik läßt sich die Zerstörung der Hepatozyten schnell und eindeutig aufzeigen. Die in vitro Untersuchung an Hepatozyten besitzt gegenüber dem Mäusetoxizitätstest den Vorteil, daß die Ergebnisse quantitativ erfaßt werden können. Außerdem entspricht es den heutigen Zeitvorstellungen, Tierversuche immer mehr durch Zellkulturen zu ersetzen (Tierschutzgesetz). Der Hämagglutinationstest ist insofern zweifelhaft, da einerseits beschrieben wird, daß die Toxine von Microcystis aeruginosa keine agglutinierende Wirkung besitzen. Zudem ist dieser Test sehr un-

empfindlich und reagiert erst ab einer ganz bestimmten Menge Toxin (mg/l). Aus diesem Grunde ist es von großer Bedeutung, weitere Studien zur Entwicklung eines geeigneten Testverfahrens durchzuführen, das einfach zu handhaben ist und schnell zu einem Ergebnis führt. Vor allem im Rahmen tierzüchterischer Maßnahmen ist es sinnvoll, weitere in vitro Studien an Zellkulturen zu betreiben.

Toxische Süßwasserblaualgen (Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae) können Mutanten entwickeln, die toxisch bzw. nicht-toxisch sind. Es wäre möglich, daß Plasmide bei der Umformung von einem nicht-toxischen zu einem toxischen Stamm beteiligt sind. Durch das Auftreten toxischer und nicht-toxischer Stämme ist es sehr schwer zu entscheiden, ob es für Weidevieh eine Gefahr darstellt, von derartig kontaminierten Wasserstellen zu trinken oder nicht. Da in den meisten Fällen erst Todesfälle oder erkrankte Tiere auf eine Kontamination von Gewässern mit toxischen Algen hinweisen, ist es dringend erforderlich, Farmer aufzuklären und Untersuchungsmethoden zu entwickeln, die ein rasches Erkennen derartig toxischer Algen ermöglichen. Die Gefährdung des Menschen durch Trinkwasser oder auch beim Baden steigt vor allem mit fortschreitender Düngung in der Landwirtschaft und Verunreinigungen aus dem kommunalen und industriellen Bereich, die derartige Massenentwicklungen toxischer Algen begünstigen. Da zur Zeit noch kein Antidot gegen die Toxine von Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae bekannt ist, kann noch keine gezielte und mit Erfolg angewandte Therapie eingesetzt werden. Aus diesem Grunde ist es erforderlich, Wasserstellen, die im-

mer wieder mit diesen toxischen Blaualgen kontaminiert werden, zu kontrollieren und in regelmäßigen Abständen Wasserproben im Labor untersuchen zu lassen. Wichtig ist es auch zu erforschen, wie die Toxine metabolisiert bzw. zersetzt werden und so ihre toxische Wirkung verlieren.

Es müssen Wasserschutzmaßnahmen entwickelt werden, die eine Verunreinigung der Gewässer aus dem landwirtschaftlichen, industriellen und besonders kommunalen Bereich reduzieren.

III. Zusammenfassung

Durch die Belastung von Gewässern mit Nährstoffen aus dem kommunalen, industriellen und landwirtschaftlichen Bereich, kann es zu einem plötzlichem, massivem Wachstum toxischer Blaualgen kommen (Eutrophierung). Aufgrund besonderer Einrichtungen, wie das Vorhandensein von Gasvakuolen, ist es einigen Spezies möglich, auch unter ungünstigen Umweltbedingungen zu überleben. Drei besonders toxisch und häufig auftretende Spezies sind Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae und Aphanizomenon flos-aquae. Werden diese Algen von Tieren und Menschen aufgenommen, so führen sie bei Tieren zu schweren Intoxikationen mit Todesfällen und beim Menschen zu Hautirritationen mit gastrointestinalen Erkrankungen. Diese Erkrankungen können auf zwei Wegen eintreten: Kontakt mit den Toxinen und toxischen Zellen beim Schwimmen oder Baden und orale Aufnahme der Toxine mit dem Trinkwasser.
Die weltweit am häufigsten vorkommenden Toxine von Blaualgen sind die Hepatotoxine von Microcystis aeruginosa. Untersuchungen ihrer Struktur weisen darauf hin, daß es sich um Polypeptid-Toxine mit einem Molekulargewicht von 904 - 1044 Dalton handelt. Nach Intoxikationen mit diesen Toxinen wird vor allem die Leber stark geschädigt. Es kommt zur Hepatozyten-Nekrose mit starker Blutansammlung und Gewichtszunahme der Leber. Der Tod tritt durch Kreislaufkollaps oder Herzversagen ein. Die Toxine von Microcystis aeruginosa besitzen eine ähnliche Wirkung wie Phalloidin, einem toxischen Peptittoxin des Pilzes Amanita phalloides. Durch Vergleich dieser beiden Toxine konnte gezeigt

werden, daß Toxine von Microcystis aeruginosa den gleichen Carrier bzw. Transportmechanismus in die Hepatozyten benutzen wie Phalloidin.

Toxine von Anabaena flos-aquae werden Anatoxin-a, -b, -c, -d, -a(s) und -b(s) genannt. Anatoxin-a ist ein Alkaloid-Toxin mit einem Molekulargewicht von 166 Dalton. Es ist ein Neuro-Toxin, das einen postsynaptisch depolarisierenden neuromuskulären Block mit Paralyse der Skelett- und Atemmuskulatur verursacht.

Die Toxine von Aphanizomenon flos-aquae besitzen ähnliche Eigenschaften wie Saxitoxin aus Salzwasser-Dinoflagellaten (Gonyaulax). An der spannungs-abhängigen Natrium-Kanal-erregbaren Membran verhindern sie die Natrium-Ionen-Leitfähigkeit.

Zur Toxizitätsbestimmung der in dieser Arbeit behandelten Süßwasserblaualgentoxine wird vor allem der Mäusetoxizitätstest eingesetzt. Andere Untersuchungsmethoden, wie der Hämagglutinationstest und Zellkulturen reagieren nicht so empfindlich auf die Toxine.
Um einem massiven Wachstum toxischer Blaualgen entgegenzuwirken, kann Kupfersulfat in unterschiedlichen Konzentrationen eingesetzt werden. Weidevieh sollte von Wasserstellen, die mit toxischen Blaualgen kontaminiert sind, möglichst ferngehalten werden.

IV. Summary: Freshwater Blue-Green Algae (Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae) Growth, occurrence, pharmacology and toxicity

Enormous growth of toxic blue-green algae appears in freshwaters with enrichment of nutrients from the communal, industrial and agricultural area (eutrophication). There is a special internal construction, like gas vacuoles, so that these algae can live under unfavourable conditions.
The most often and very toxic species of blue-green algae are Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae and Aphanizomenon flos-aquae.
Ingestion by animals or men causes illness with death or gastroenteritis and contact dermatitis in humans.
There are two possibilities of intoxication: contact with the toxins of toxic cells while swimming or bathing and ingestion of cells with drinking water. Hepatotoxins from Microcystis aeruginosa are most widely distributed geographically.
They are polypeptid-toxins with a molecular weight of 909 - 1044 Dalton.
Intoxications with these toxins cause liver damage with hepatocytes necrosis. The animals show grossly enlarged livers engorged with blood. Death is caused by circulatory collapse or heart failure. There are similarities of Microcystis toxins and Phalloidin, a peptid-toxin from the poisonous mushroom Amanita phalloides.
Comparisons with these toxins show that toxins of Microcystis aeruginosa use the same carrier or transportmechanism as Phalloidin.

Toxins of Anabaena flos-aquae are called Anatoxin-a, -b, -c, -d, -a(s) and -b(s). Anatoxin-a is a alkaloid-toxin with a molecular weight of 166 Dalton. It is a neurotoxin which causes a postsynaptic depolarizing neuromuscular block with paralysis of the skeletal- and respiratory muscle.

Toxins of Aphanizomenon flos-aquae have similary qualities as Saxitoxin from marine-water dinoflagellates (Gonyaulax). They cause a blockage of the permeability to sodium ions along the nerve and muscle membranes.

Detection methods for these freshwater blue-green algae toxins are mainly the mouse-bioassay.
Other methods, like hemagglutination and cell-cultures, are not very sensible for these toxins.

Copper sulfate can be used for the control of undesirable algal growth.
Livestock should be kept away from water supplies with toxic blue-green algae.

V. Literaturverzeichnis:

Adelmann W.J., Fohlmeister J.F., Sasner J.J., Jr., Ikawa M. (1982)
Sodium channels blocked by Aphantoxin obtained from the blue-grenn alga, Aphanizomenon flos-aquae
Toxicon, Vol. 2, pp. 513-516

Alam M., Euler K.L. (1981)
Chemical studies on toxins from the blue-green alga Aphanizomenon flos-aquae
Environ. Sci. Res., 20 (Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 405-414

Alam M., Ikawa M., Sasner J.J., Jr., Sawyer P.J. (1973)
Purification of Aphanizomenon flos-aquae toxin and its chemical and physiological properties
Toxicon, Vol. 11, pp. 65-72

Alam M., Shimizu Y., Ikawa M., Sasner J.J. (1978)
Reinvestigation of the toxins from the blue-green alga, Aphanizomenon flos-aquae, by a high performance chromatographic method
J. Environ. Sci. Health, A13(7), pp. 493-499

Allen E.A.D., Gorham P.R. (1981)
Culture of planktonic cyanophytes on agar
Environ. Sci. Res., 20 (Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 185-192

Amann M.J. (1984)
Instability and variable toxicity of HBP-Tx, a toxin in the cyanobacterium Microcystis aeruginosa
Toxicon, Vol. 22, No. 1, pp. 107-114

Amann M.J. (1982)
Model of the formation of different reacting Microcistis toxins
S. Afr. J. Sci., Vol. 78, p. 384

Amann M.J., Eloff J.N. (1980)
Premilinary study of the toxins of different Microcystis toxins
S. Afr. J. Sci., Vol. 76, pp. 419-420

Amann M.J., Jüttner F. (1981)
A rapid procedure for the isolation of an unstable Microcystis toxin with FDF-features
FEMS Microbiol. letters, 12, pp. 191-193

Aplin T.E.H. (1983)
The distribution and ecology of toxic cyanophyta in South-western Australia
Toxicon, Suppl. 3, pp. 17-20

Astrachan N.B., Archer B.G. (1981)
Simplified monitoring of Anatoxin-A by reverse-phase high performance liquid chromatography and the sub-acute effects of Anatoxin-A in rats
Environ. Sci. Res., 20 (Water (Environ.: Algal Toxins Health), pp. 437-446

Aune T., Berg K. (1986)
Use of freshly prepared rat hepatocytes to study toxicity of blooms of the blue-green algae Microcystis aeruginosa and Oscillatoria Agardhii
J. Toxicol. Environ. Hlth., 19, pp. 325-336

Aziz K.M.S. (1974)
Diarrhea toxin abtained from a waterbloom-producing species, Microcystis aeruginosa Kütz
Science, Vol. 193

Barlow D.J., van Rensburg W.L.J., Pieterse A.J.H., Eloff J.N. (1979)
Effect of phosphate concentration on the fine structure of the cyanobacterium, Microcystis aeruginosa Kütz. emend. Elenkin
J. Limnol. Soc. sth. Afr., 5(2), pp. 79-83

Barton L.L., Foster E.W., Johnson G.V. (1980)
Viability changes in human neutrophils and monocytes following exposure to toxin extracted from Aphanizomenon flos-aquae
Can. J. Microbiol., 26, pp. 272-274

Bates H.A., Rapoport H. (1979)
Synthesis of Anatoxin-a via intramolecular cyclization of Iminium Salts
J. Am. Chem. Soc., 101:5, pp. 1259-1265

Berg K., Aune T. (1987)
Freshly prepared Rat Hepatocytes used in Screening the Toxicity of Blue-green Algal Blooms
J. Toxicol. Environ. Hlth., 20, pp. 187-197

Berg K., Carmichael W.W., Skulberg O.M., Benestad C., Underdal B. (1987b)
Investigation of a toxic water-bloom of Microcystis aeruginosa (Cyanophyceae) in Lake Akersvatn. Norway
Hydrobiologia, 144, pp. 97-103

Berg K., Skulberg O.M., Skulberg R., Underdahl B., Willen T. (1986)
Observations of toxic blue-green algae (Cyanobacteria) in some Scandinavian Lakes
Acta Vet. Scand., 27, pp. 440-452

Berg K., Skulberg O.M., Skulberg R. (1987a)
Effects of decaying toxic blue-green algae on water quality - a laboratory study
Arch. Hydrobiol., 108(4), pp. 549-563

Bertru G., Le Saout M., Gueune Y. (1986)
Toxicity of Copper on Microcystis aeruginosa Kütz. and Aphanizomenon flos-aquae Ralfs
Int. Revue ges. Hydrobiol., 71(6), pp. 841-849

Billings W.H. (1981)
Water-associated human illness in northeast Pennsylvania and its suspected association with blue-green algae blooms
Environ. Sci. Res., 20 (Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 243-256

Bishop C.T., Anet E.F.L.J., Gorham P.R. (1959)
Isolation and identification of the Fast-Death Factor in Microcystis aeruginosa NRC-1
Can. J. Biochem. Physiol., Vol. 37, pp. 453-471

Blaurock A.E., Walsby A.E. (1976)
Crystalline structure of the gas vesicle wall from Anabaena flos-aquae
J. Mol. Biol., 105, pp. 183-199

Booker M.J., Walsby A.E. (1979)
The Relative Form Resistance of Straight and Helical Blue-Green Algal Filaments
Br. phycol. J., 14, pp. 141-150

Botes D.P. (1986)
Cyanoginosins - Isolation and structure
P.S. Steyn, R. Vleggaar (Eds.), Mycotoxins and Phycotoxins, Sixth Int.
IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Pretoria, Re. S. Afr., July 1985, Elsevier Amsterdam 1986

Botes D.P., Kruger H., Viljoen C.C. (1982a)
Isolation and characterization of four toxins from the blue-green alga, Microcystis aeruginosa
Toxicon, Vol. 20. No. 6, pp. 945-954

Botes D.P., Tuinman A.A., Wessels P.L., Viljoen C.C., Kruger H. (1984)
The structure of Cyanoginosin-LA, a cyclic heptapeptide toxin from the cyanobacterial Microcystis aeruginosa
J. Chem. Soc. Perkin Trans I, pp. 2311-2318

Botes D.P., Viljoen C.C., Kruger H., Wessels P.L., Williams D.H. (1982b)
Configuration assignments of the amino acid residues and the presence of N-Methyldehydroalanine in toxins from the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Toxicon, Vol. 20, No. 6, pp. 1037-1042

Botes D.P., Viljoen C.C., Kruger H., Wessels P.L., Williams D.H. (1982c)
Structure of Toxins of the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
S. Afr. J. Sci., Vol. 78, p. 378

Botes D.P., Wessels P.L., Kruger H. (1985)
Structural Studies on Cyanoginosins-LR, -YR, -YA, and -YM, Peptide Toxins from Microcystis aeruginosa
J. Chem. Soc. Perkin Trans I, pp. 2747-2748

Bottomley P.J., Grillo J.F., van Baalen C., Tabita F.R. (1979)
Synthesis of Nitrogenase and Heterocysts by Anabaena sp. CA in the Presence of high levels of Ammonia
J. Bact., 140(3), pp. 938-943

Bourke A.T.C., Hawes R.B., Neilson A., Stallmann N.D. (1983)
An Outbreak of Hepato-Enteritis (The Palm Island Mystery Disease) possibly caused by Algal Intoxication
Toxicon, Suppl. 3, pp. 45-48

Brooks W.P., Codd G.A. (1986)
Extraction and purification of toxic peptides from natural blooms and laboratory isolates of the cyanobacterium Microcystis aeruginosa
Lett. Appl. Microbiol. 2, pp. 1-3

Brooks W.P., Codd G.A. (1987)
Distribution of Microcystis aeruginosa Peptide Toxins and Interactions with Microsomes in Mice
Pharm. Toxicol., 60, pp. 187-191

Campbell H.F., Edwards O.E., Kolt R. (1977)
Synthesis of nor-anatoxin-a and anatoxin-a
Can. J. Chem., Vol. 55, pp. 1372-1379

Campbell H.F., Edwards D.E., Elder J.W., Kolt R.J. (1979)
Total synthesis of DL-anatoxin-a and isoanatoxin-a
Pol. J. Chen., 53, pp. 27-36

Carmichael W.W., Gorham P.R., Biggs D.F. (1977)
Two laboratory case studies on the oral toxicity to calves of the freshwater cyanophyte (blue-green alga) Anabaena flos-aquae NRC-44-1
Can. Vet. J., Vol. 18, No. 3, pp. 71-75

Carmichael W.W., Gorham P.R. (1974)
An improved method for obtaining axenic clones of planktonic blue-green algae
J. Phycol. 10, pp. 238-240

Carmichael W.W., Bent P.E. (1981)
Hemagglutination method for detection of freshwater cyanobacteria (Blue-green Algae) toxins
Appl. Environ. Microbiol., Vol. 41, No. 6, pp. 1383-1388

Carmichael W.W., Gorham P.R. (1977)
Factors influencing the toxicity and animal susceptibility of Anabaena flos-aquae (Cyanophyta) blooms
J. Phycol. 13, pp. 97-101

Carmichael W.W., Biggs D.F., Gorham P.R. (1975)
Toxicology and pharmocological action of Anabaena flos-aquae toxin
Science, Vol. 187, pp. 542-544

Carmichael W.W., Jones C.L.A., Mahmood N.K., Theiss W.C. (1985)
Algal toxins and water-based diseases
CRC Critical Reviews in Environmental Control, Vol. 15, Issue 3, pp., 275-313

Carmichael W.W. (1984)
Isolation, culture and toxicity testing of toxic fresh-water Cyanobacteria (Blue-green Algae)
Symp. Leningrad, USSR, Sept. 1984, Pub. by Gordon and Breu, New York

Carmichael W.W. (1986d)
Anatoxin-A
Compendium Natural Product Toxins, Marcel/Dekkar, A. Greyler (ed)

Carmichael W.W. (1986b)
Microcystin
Compendium Natural Product Toxins, Marcel/Dekkar, A. Greyler (ed)

Carmichael W.W. (1986c)
Aphantoxin
Compendium Natural Product Toxins, Marcel/Dekkar, A. Greyler (ed)

Carmichael W.W., Schwartz L.D. (1984)
Preventing livestock death from blue-green algae poisoning
U.S. Dept. Agri. Farmers Bulletin 2275, 11pp.

Carmichael W.W., Biggs D.F., Peterson M.A. (1979)
Pharmacology of Anatoxin-a, produced by the freshwater cyanophyte Anabaena flos-aquae NRC-44-1
Toxicon, Vol. 17, pp. 229-236

Carmichael W.W. (1982a)
Chemical and toxicological studies of the toxic freshwater cyanobacteria Microcystis aeruginosa, Anabaena flos-aquae and Aphanizomenon flos-aquae
S. Afr. J. Sci., Vol. 78, pp. 367-372

Carmichael W.W., Biggs D.F. (1978)
Muscle sensitivity differences in two avian species to anatoxin-a produced by the freshwater cyanophyte Anabaena flos-aquae NRC-44-1
Can. J. Zool., Vol. 56, pp. 510-512

Carmichael W.W., Mahmood N.A. (1984)
Toxins from freshwater cyanobacteria
In: Ragelis E.P. (ed) Seafood Toxins, ACS Symp. Series 262
Am. Chem. Soc., Washington D.C., pp. 377-389

Carmichael W.W. (1986a)
Algal Toxins
Advances in Botanical Research, Vol. 12, pp. 47-101

Carmichael W.W., Gorham P.R. (1980)
Freshwater cyanophyte toxins: types and their effects on the use of micro algae biomass
In: G. Shelef and C.J. Soeder, eds. "The production and use of micro-algae biomass", Elsevier/North-Holland

Carmichael W.W., Gorham P.R. (1981)
The mosaic nature of toxic blooms of cyanobacteria
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 161-172

Carmichael W.W. (1981)
Freshwater Blue-green Algae (Cyanobacteria) Toxins - A Review
The Water Environment: Algal Toxins and Health (Plenum Publishing Corporation, 1981)

Carmichael W.W., Gorham P.R. (1978)
Anatoxins from clones of Anabaena flos-aquae isolated from lakes of Western Canada
Mitt. Int. Verein. Theor. angew. Limnol., 21, pp. 285 ff.

Clarke S.E., Stuart J., Sanders-Loehr J. (1987)
Induction of Siderophore Activity in Anabaena spp. and Its Moderation of Copper Toxicity
Appl. Environ. Microbiol., 53(5), pp. 917-922

Collins M. (1978)
Algal
Toxins
Microbiol. Reviews, Vol. 42, pp. 725-746

Dabholkar A.S., Carmichael W.W. (1987)
Ultrastructural Changes in the Mouse Liver Induced by Hepatotoxin from the Freshwater Cyanobacterium Microcystis aeruginosa Strain 7820
Toxicon, Vol. 25, Nol. 3, pp. 285-292

Daft M.J., Mc Cord S.B., Steward W.D.P. (1975)
Ecological studies on algal-lysing bacteria in freshwaters
Freshwater Biol., 5, pp. 577-596

Devlin J.P., Edwards O.E., Gorham P.R., Hunter N.R., Pike R.K., Stavric B. (1977)
Anatoxin-a, a toxic alkaloid from Anabaena flos-aquae NRC-44h
Can. J. Chem., Vol. 55, pp. 1367-1371

Elder J.F., Horne A.J. (1978)
Copper Cycles and CuSO4 Algicidal Capacity in Two California Lakes
Environ. Manage., 2(1), pp. 17-30

Elleman T.C., Falconer I.R., Jackson A.R.B., Runnegar M.T. (1978)
Isolation, Characterization and Pathology of the Toxin from a Microcystis aeruginosa (= Anacystis cyanea) Bloom
Aust. J. Biol. Sci., 31, pp. 209-218

Eloff J.N. (1981)
Autecological studies on Microcystis
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 71-96

Eloff J.N., Siegelmann H.W., Kycia H. (1982)
Extraction, Isolation and Stability of Toxins from Microcystis aeruginosa
S. Afr. J. Sci., Vol. 78, p. 377

Eloff J.N., Steinitz Y., Shilo M. (1976)
Photooxidation of Cyanobacteria in Natural Conditions
Appl. Environ. Microbiol., 31(1), pp. 119-126

Eloff J.N., van der Westhuizen A.J. (1981)
Toxicological studies on Microcystis
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 343-364

Falconer I.R., Jackson A.R.B., Langley J., Runnegar M.T. (1981)
Liver Pathology in Mice in Poisoning by the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
Aust. J. Biol. Sci., 34, pp. 179-187

Falconer I.R., Runnegar M.T.C., Jackson A.R.B., Mc Innes A. (1983a)
The occurrence and consequences of blooms of the toxic blue-green alga Microcystis aeruginosa in Eastern Australia
Toxicon, Suppl. 3, pp. 119-121

Falconer I.R., Buckley T., Runnegar M.T.C. (1986)
Biological half-life Organ Distribution and Excretion of 125 I-labelled Toxic Peptide from the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Aust. J. Biol. Sci., 39, pp. 17-21

Falconer I.R., Runnegar M.T.C., Huynh V.L. (1983c)
Effectivness of activated carbon in the removal of algal toxin from potable water supplies: a pilot plant investigation
In: Technical Papers presented at the tenth federal convention of the Australian Water and Wastewater Association, Sydney, Australia, April 1983c, 26, 1-8

Falconer I.R., Beresford A.M., Runnegar M.T.C. (1983b)
Evidence of liver damage by a toxin from a bloom of the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Med. J. Aust., 1, pp. 511-514

Fallon R.D., Brock T.D. (1981)
Overwintering of Microcystis in Lake Mendota
Freshwater Biol., 11, pp. 217-226

Foxall T.L., Sasner J.J., Jr. (1981)
Effects of a hepatic toxin from the Cyanophyte Microcystis aeruginosa
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 365-387

Gibson C.E. (1972)
The algicidal effect of Copper on a green and blue-green alga and some ecological implications
J. Appl. Ecol., 9, p. 513-518

Gorham P.R. (1964)
Toxic Algae
In: Jackson D.F. (ed) "Algae and Man", pp. 307-336, Plenum Press, N.Y.

Grabow W.O.K., Du Randt W.C., Prozesky O.W., Scott W.E. (1982)
Microcystis aeruginosa Toxin: Cell Culture Toxicity Hemolysis and Mutagenicity Assays
Appl. Environ. Microbiol., Vol. 43, No. 6, pp. 1425-1433

Gregson R.P., Lohr R.R. (1983)
Isolation of Peptide Hepatotoxins from the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
Comp. Biochem. Physiol., Vol. 74C, pp. 413-417

Henning M.J., Kohl F.G. (1981)
Toxic Blue-green Algae Water Blooms Found in some Lakes in the German Democratic Republic
Int. Revue ges. Hydrbiol., 66(4), pp. 553-561

Hindman S.H., Carson L.A., Favero M.S., Peterson N.J., Schonberger L.B., Soleno J.T. (1975)
Pyrogenic reactions during haemodialysis caused by extramural endotoxin
The Lancet, Okt. 18, pp. 732-734

Horne A.J., Goldman C.R. (1974)
Suppression of Nitrogen Fixation by blue-green algae in a Eutrophic Lake with Trace Additions of Copper
Science, 1983, pp. 409-411

Huber C.S. (1972)
The Crystal Structure and Absolute Configuration of 2,9-Diacetyl-9-azabicyclo(4,2,1)non-2,3-ene
Acta Cryst., B 28, pp. 2577-2582

Ikawa M., Auger K., Mosley S.P., Sasner J.J., Jr., Noguchi T., Hashimoto K. (1985)
Toxin profiles of the blue-green alga Aphanizomenon flos-aquae
In: Toxic Dinoflagellates; Proc. 3th Int. Conf., St. Andrews, Canada, 1985; Ed.: Anderson D.M., White A.W., Baden D.G., Elsevier: N.Y., Amst., Oxford, 1985

Ikawa M., Wegener K., Foxall T.L., Sasner J.J., Jr. (1982)
Comparison of the toxins of the blue-green alga Aphanizomenon flos-aquae with Gonyaulax toxins
Toxicon, Vol. 20, No. 4, pp. 747-752

Ikawa M., Wegener K., Foxall T.L., Sasner J.J., Jr., Carter P.W., Shoptaugh N.H. (1981)
Studies on the fluorometric determination of the toxins of the blue-green alga Aphanizomenon flos-aquae
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 415-425

Jackson A.R.B., Mc Innes A., Falconer I.R., Runnegar M.T.C. (1984)
Clinical and Pathological Changes in Sheep Experimentally Poisoned by the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
Vet. Pathol., 21, pp. 102-113

Jackson A.R.B., Mc Innes A., Falconer I.R., Runnegar M.T.C. (1983)
Toxicity for sheep of the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Toxicon, Suppl. 3, pp. 191-194

Kfir R., Johannsen E., Botes D.P. (1986)
Preparation of Anti-Cyanoginosin-LA Monoclonal Antibody
In: Proc. Sixth Int. Conf. Mycotoxins and Phycotoxins,
Pretoria, Rep. S. Afr., July 1985, Elsevier Amsterdam
1986

Kirpenko N.I. (1987)
Phytopathic Properties of Blue-Green Algae Toxin
Hydrobiol. J., 23, pp. 44-47

Kirpenko N.I., Kirpenko Y.A. (1986)
Factors affecting toxin formation by Algae (a Survey)
Hydrobiol. J., 22, pp. 1-6

Kirpenko Y.A., Kirpenko N.I. (1980)
Biological activity of the algal toxin of blue-green
algae responsible for algal bloom
Hydrobiol. J., 16(6), pp. 86-89

Kirpenko Y.A., Sirenko L.A., Kirpenko N.I. (1981)
Some aspects concerning remote after-effects of blue-
green algae toxins impact on warm-blooded animals
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ: Algal Toxins
Health), pp. 257-269

Kobbia I.A., Salama A.M., Shabana E.F. (1987)
Changes in growth, carbohydrate and nitrogen metabolic
processes in Anabaena flos-aquae and Phormidium fragile
(Cyanophyta), under the combined effect of Amitrole and
Dalapon
Cryptogamie, Algologie, 8(1), pp. 19-28

Konopka A., Kromkamp J., Mur L.R. (1987)
Regulation of Gas Visicle Content and Buoyancy in Light- or Phosphate-Limited Cultures of Aphanizomenon flos-aquae (Cyanophyta)
J. Phycol., 23, pp. 70-78

Konopka A., Kromkamp J.C., Mur L.R. (1987a)
Buoyancy regulation in phosphate-limited cultures of Microcystis aeruginosa
FEMS Microbiol. Ecol., 45, pp. 135-142

Konst J., Mc Kercher P.D., Gorham P.R., Robertson A., Howell J. (1965)
Symptoms and Pathology Produced By Toxic Microcystis aeruginosa NRC-1 in Laboratory and Domestic Animals
Can. J. Comp. Med. Vet. Sci., 29, pp. 221-228

Kremer B.P. (1978)
Giftalgen und Algengifte
Biol. in unserer Zeit, 8. Jahrg., Nr. 4

Kremer B.P. (1981)
Toxische Panktonalgen
Naturwiss. 68. 101-109, 1981, Springer-Verlag

Krishnamurthy T., Carmichael W.W., Sarver E.W. (1986)
Toxic Peptides from Freshwater Cyanobacteria (Blue-Green Algae). I. Isolation, Purification and Characterization of Peptides from Microcystis aeruginosa and Anabaena flos-aquae
Toxicon, 24(9), pp. 865-873

Kromkamp J., Konopka A., Mur L.R. (1986)
Buoyancy Regulation in a Strain of Aphanizomenon flos-aquae (Cyanophyceae): the Importance of Carbohydrate Accumulation and Gas Vesicle Collapse
J. gen. Microbiol., 132, pp. 2113-2121

Kromkamp J.C., Mur L.R. (1984)
Buoyant density changes in the cyanobacterium Microcystis aeruginosa due to changes in the cellular carbohydrate content
FEMS Microbiol. Lett., 25, pp. 105-109

Krüger G.H.J., Eloff J.N. (1981)
The effect of physico-chemical factors on growth relevant to the mass culture of axenic Microcystis
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 193-222

Krüger G.H.J., Eloff J.N. (1979a)
The Interaction between Cell Density of Microcystis Batch Cultures and Light Induced Stress Conditions
Z. Pflanzenphysiol., 95, S. 441-447

Krüger G.H.J., Eloff J.N. (1979b)
Chemical changes in the growth medium of Microcystis batch cultures grown at stress and non-stress light intensities
J. Limnol. Soc. Sth. Afr., 5(1), pp. 11-16

Kureyshevich A.V. (1979)
Changes in Chlorophyll Content in Phytoplankton during Blooms of Blue-green Algae
Hydrobiol. J., 15(2), pp. 55-59

Lam W.Y., Silvester B.W. (1979)
Growth Interactions among Blue-Green (Anabaena, Oscillarioides, Microcystis aeruginosa) and Green (Chlorella sp.) Algae
Hydrobiol. Vol. 63(2), pp. 135-143

Lehmann H. (1978)
Gasvakuolen enthaltende Blaualgen und ihre Toxizität für Tiere
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 85, S. 202-205

Lehmann H., Jost M. (1971)
Kinetics of the Assembly of Gas Vacuoles in the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa Kütz. emend. Elenkin
Arch. Microbio., 79, pp. 59-68

Lehmann H., Wiencke C. (1980)
Disappearance of gas vacuoles in the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Plant, Cell and Environ., 3, pp. 319-324

Lind M.G., Edler L., Fernö S., Lundgerg R., Nilsson R.D. (1983)
Risken för algförgiftning har ökat Hundar avled efter bad i södra Östersjön
Läkartidningen, Vol. 80, Nol. 28-29, pp. 2734-2737

Louw P.G.J. (1950)
The active constituent of the poisonous algae, Microcystis toxica Stephens
S. Afr. Ind. Chem., 4, pp. 62-66

Mahmood N.A., Carmichael W.W. (1986a)
Paralytic Shellfish Poisons produced by the Freshwater Cyanobacterium Aphanizomenon flos-aquae NH-5
Toxicon, Vol. 24, No. 2, pp., 175-186

Mahmood N.A., Carmichael W.W. (1986b)
The Pharmacology of Anatoxin-a(s), a Neurotoxin produced by the Freshwater Cyanobacterium Anabaena flos-aquae NRC 525-17
Toxicon, Vol. 24, No. 5, pp. 425-434

Mahmood N.A., Carmichael W.W. (1987)
Anatoxin-a(s), an Anticholinesterase from the Cyanobacterium Anabaena flos-aquae NRC-525-17
Toxicon, Vol. 25(11), pp. 1221-1227

Mc Innes A., Jackson A.R.B., Falconer I.R., Runnegar M.T.C. (1983)
The clinical pathology of sheep experimentally poisoned with the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Toxicon, Suppl. 3, pp. 281-284

Mc Knight D.M., Chisholm S.W., Harleman D.R.F. (1983)
CuSO4 Treatment of Nuisance Algal Blooms in Drinking Water Reservoirs
Environ. Manage., 7(4), pp. 311-320

Moore R.E. (1977)
Toxins from Blue-green Algae
Bio Science, Vol. 27, Nr. 12

Murphy T.P., Lean D.R.S. (1976)
Blue-green Algae: Their Excretion of Iron-Selective Chelators Enables Them to Dominante Other Algae
Science, Vol. 192, pp. 900-902

Murthy J.R., Capindale J.B. (1970)
A new isolation and structure for the endotoxin from Microcystis aeruginosa NRC-1
Can. J. Biochem., 48, pp. 508-510

Oishi S., Watanabe M.F. (1986)
Acute Toxicity of Microcystis aeruginosa and Its Cardiovascular Effects
Environ. Res., 40, pp. 518-524

Oliver R.L., Thomas R.H., Reynolds C.S., Walsby A.E. (1985)
The sedimentation of buoyant Microcystis colonies caused by precipitation with an iron-containing colloid
Proc. Roy. Soc. London, B. 223, pp. 511-518

Oliver R.L., Walsby A.E. (1984)
Direct evidence for the role of light-mediated gas vesicle collapse in the buoyancy regulation of Anabaena flos-aquae (Cyanobacteria)
Limnol. Oceanogr., 29(4), pp. 879-886

Ostensvik O., Skulberg O.M., Soli N.E. (1981)
Toxicity studies with blue-green algae from Norwegian Inland Waters
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 315-324

Pearl H.W. (1976)
Specific Associations of the Blue-green Algae Anabaena and Aphanizomenon with Bacteria in Freshwater Blooms
J. Phycol., 12, pp. 431-435

Pearl H.W., Tucker J., Bland P.T. (1983)
Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (Microcystis aeruginosa) surface blooms
Limnol. Oceanogr., 28(5), pp. 847-857

Pearl H.W., Ustach J.F. (1982)
Blue-green algal scums: An explanation for their occurrence during freshwater blooms
Limnol. Oceanogr., 27(2), pp. 212-217

Poon G.K., Priestley I.M., Hunt S.M., Fawell J.K., Codd G.A. (1987)
Purification procedure for peptide toxins from the cyanobacterium Microcystis aeruginosa involving high-performance thin-layer chromatography
J. Chromatogr., 387, pp. 551-555

Preston T., Stewart W.D.P., Preynolds C.S. (1980)
Bloom-forming cyanobacterium Microcystis aeruginosa overwinters on sediment surface
Nature, Vol. 288, pp. 365-367

Raps S., Wyman K., Siegelman H.W., Falkowski P.G. (1983)
Adaptation of the Cyanobacterium Microcystis aeruginosa to Light Intensity
Plant Physiol., 72, pp. 829-832

Reynolds C.S. (1973)
Growth and buoyancy of Microcystis aeruginosa Kütz. emend. Elekin in a shallow eutrophic lake
Proc. R. Soc. London B, 184, pp. 29-50

Reynolds C.S. (1984)
Artificial induction of surface blooms of cyanobacteria
Verh. Internat. Verein. Limnol., 22, pp. 638-643

Reynolds C.S., Jaworski G.H.M., Cmiech H.A., Leedale G.F. (1981)
On the Annual Cycle of the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa Kütz. emend. Elenkin
Phil. Trns. Royal Soc., London B, 293, pp. 419-477

Rother J.A., Fay P. (1979)
Blue-Green Algal Growth and Sporulation in Response to Simulated Surface Bloom Conditions
Br. phycol. J., 14, pp. 59-68

Runnegar M.T., Andrews J., Gerdes R.G., Falconer I.R. (1987)
Injury to Hepatocytes induced by a peptide toxin from Microcystis aeruginosa
Toxicon, Vol. 25(11), pp. 1235-1239

Runnegar M.T., Falconer I.R. (1982b)
Similarities and differences in the effects of Microcystis hepatotoxin and phalloidin
Aus: Intern. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, Sept. 1-3, 1982

Runnegar M.T., Falconer I.R. (1981)
Isolation, Characterization and Pathology of the toxin from the Blue-green alga Microcystis aeruginosa
Environ. Sci. Res., 20(Water Einviron.: Algal Toxins Health), pp. 325-342

Runnegar M.T., Falconer I.R., Silver J. (1981)
Deformation of Isolated Rat Hepatocytes by a Peptide Hepatotoxin from the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
Nauny-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 317, pp. 268-272

Runnegar M.T.C., Falconer I.R., Buckley T., Jackson A.R.B. (1986)
Lethal potency and tissue distribution of 125-I-labelled toxic peptides from the blue-green alga Microcystis aeruginosa
Toxicon, Vol. 24, No. 5, pp. 506-509

Runnegar M.T.C., Falconer I.R. (1986)
Effects of toxin from the cyanobacterium Microcystis aeruginosa on ultrastructural morphology and actin polymerization in isolated hepatocytes
Toxicon, Vol. 24, No. 2, pp. 109-115

Runnegar M.T.C., Falconer I.R. (1982a)
The in vivo and in vitro Biological Effects of the Peptide Hepatotoxin from the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
S. Afr. J. Sci., Vol. 78

Santikarn S., Williams D.H., Smith R.J., Hammond S.J., Botes D.P., Tuinman A., Wessels P.L., Viljoen C.C., Kruger H. (1983)
A Partial Structure for the Toxin BE-4 from the Blue-green Algae, Microcystis aeruginosa
J. Chem. Soc. Chem. Commun., 12, pp. 652-654

Sasner J.J., Jr., Ikawa M., Foxall T.L. (1984)
Studies on Aphanizomenon and Microcystis Toxins
In: Ragelis E.P. (ed) Seafood Toxins ACS Symp., Series 262
Am. Chem. Soc., Washington D.C., pp. 391-406

Sasner J.J., Jr., Ikawa M., Foxall T.L., Watson W.H. (1981)
Studies on Aphantoxin from Aphanizomenon flos-aquae in New Hampshire
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 389-403

Scott W.E. (1974)
The Isolation of Microcystis
S. Afr. J. Sci., Vol. 70, p. 179

Scott W.E., Barlow D.J., Hauman J.H. (1981)
Studies on the ecology, growth and physiology of toxic Microcystis aeruginosa in South Africa
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 49-69

Shear H., Walsby A.E. (1975)
An Investigation into the possible Light-Shielding Role of Gas Vacuoles in a Planktonic Blue green Alga
Br. phycol. J., 10, pp. 241-251

Shimizu Y., Norte M., Hori A., Genenah A., Kobayashi M. (1984)
Biosynthesis of Saxitoxin Analogues: The Unspected Pathway
J. Am. Chem. Soc., 106, pp. 6433-6434

Siegelman H.W., Adams W.H., Stoner R.D., Slatkin D.N. (1984)
Toxins of Microcystis aeruginosa and Their Hematological and Histopathological Effects
In: Ragelis E.P. (ed) Seefood Toxins ACS Symp. Series 262, Am. Chem. Soc., Washington D.D., pp. 407-413

Skulberg O., Codd G.A., Carmichael W.W. (1984)
Toxic Blue-green Algal Blooms in Europe: A Growing Problem
Ambio, Vol. 13, No. 4

Slatkin D.N., Stoner R.D., Adams W.H. (1983)
Atypical Pulmonary Thrombosis Caused by a Toxic Cyanobacterial Peptide
Science, Vol. 220, p. 1383

Smith R.A., Lewis D. (1987)
A rapid Analysis of Water for Anatoxin-a, the unstable toxic Alkaloid from Anabaena flos-aquae, the stable non-toxic Alkaloids left after Bioreduction and a related Amine which may be Natures Precursor to Anatoxin-a
Vet. Hum. Toxicol., 29(2), pp. 153-154

Soll M.D., William M.C. (1985)
Mortality of a white Rhinoceros (Ceratotherium Simum) suspected to be associated with the blue-green alga Microcystis aeruginosa
J. S. Afr. Vet. Assoc., 56(1), pp. 49-51

Soltero R.A., Nichols D.G. (1981)
The recent blue-green algal blooms of Lang Lake, Washington
Environ. Sci. Res., 20(Water Environ.: Algal Toxins Health), pp. 143-159

Spivak C.E., Witkop B., Albuquerque E.X. (1980)
Anatoxin-a: A Novel, Potent Agonist at the Nicotinic Receptor
Molecular Pharmacology, 18, pp. 384-394

Takamura N., Iwakuma T., Yasuno M. (1987)
Uptake of 13C and 15N (ammonium, nitrate and urea) by Microcystis in Lake Kasumigaura
J. Plankton Res., 9(1), pp. 151-165

Takamura N., Iwakuma T., Yasuno M. (1986)
Photosynthesis of size-fractionated phytoplankton population in hypertrophic Lake Ksaumigaura, Japan
Arch. Hydrobiol., 108(2), pp. 235-257

Takamura N., Yasuno M., Sugahara K. (1984)
Overwintering of Microcystis aeruginosa Kütz. in a shallow lake
J. Plankton. Res., 6(6(, pp. 1019-1023

Theiss W.W., Carmichael W.W. (1986)
Physiological Effect of a Peptide Toxin Produced by the Freshwater Cyanobacteria (Blue-Green Algae) Microcystis aeruginosa strain 7820
In: Proc. Sixth Int. Conf Mycotoxins and Phycotoxins, Pretoria, Rep. S. Afr., July 1985, Elsevier Amsterdam 1986

Thomas R.H., Walsby A.E. (1985)
Buoyancy Regulation in a Strain of Microcystis
J. gen. Microbiol., 131, pp. 799-809

Toerien D.F., Scott W.E. (1976)
Microcystis Toxins: Isolation, Identification, Implications
Water SA, Vol. 2, No. 4

Tupik N.D., Los S.I. (1979)
The content of water-soluble proteins of the ß Complex in the Seston in the course of its removal and processing
Hydrobiol. J., 15(3), pp. 47-50

Tustin R.C., van Rensburg S.J., Eloff J.N. (1973)
Hepatic damage in the Primate following ingestion of toxic algae
Proceedings Int. Liver Congress Pitman Medical, pp. 383-385

Vance B.D. (1965)
Composition and succession of Cyanophycean water blooms
J. Phycol., 1, pp. 81-86

Vance B.D. (1966)
Sensitivity of Microcystis aeruginosa and other blue-green algae and associated bacteria to selected antibiotics
J. Phycol., 2, pp. 125-128

Verhoeven R.L., Eloff J.N. (1978)
Effect of lethal concentrations of copper on the ultrastructure and growth of Microcystis
Proc. Electron. Microsc. Soc. S. Afr., 9, pp. 161-162

Walsby A.E. (1977)
Absence of Gas Vesicle Protein in a Mutant of Anabaena flos-aquae
Arch. Microbiol., 114, pp. 167-170

Walsby A.E. (1975)
Gas Vesicles
Ann. Rev. plant Physiol., 26, pp. 427-439

Walsby A.E. (1972)
Structure and function of gas vacuoles
Bact. Rev., 36, pp. 1-31

Walsby A.E., Booker M.J. (1980)
Changes in Buoyancy of a Planktonic Blue-Green Alga in Reponse to Light Intensity
Br. phycol. J., 15, pp. 311-319

Watanabe M.F., Oishi S. (1982)
Toxic Substances from a Natural Bloom of Microcystis aeruginosa
Appl. Environ. Microbiol., Vol. 43, No. 4, pp. 819-822

Watanabe M.F., Oishi S. (1985)
Effects of Environmental Factors on Toxicity of a Cyanobacterium (Microcystis aeruginosa) under Culture Conditions
Appl. Environ. Microbiol., 49(5), pp. 1342-1344

Watanabe M.F., Oishi S. (1983)
A Highly Toxic Strain of Blue-green alga Microcystis aeruginosa Isolated from Lake Suwa
Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49(11), p. 1759

van der Westhuizen A.J., Eloff J.N. (1983)
Effect of Culture Age and pH of Culture Medium on the Growth and Toxicity of the Blue-green Alga Microcystis aeruginosa
Z. Pflanzenphysiol., 110, S. 157-163

van der Westhuizen A.J., Eloff J.N., Krüger G.H.J. (1986)
Effect of temperature and light (fluene rate) on the composition of the toxin of the Cyanobacterium Microcystis aeruginosa (UV-006)
Arch. Hydrobiol., 108(2), pp. 145-154

van der Westhuizen A.J., Eloff J.N. (1985)
Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga Microcystis aeruginosa (UV-006)
Planta, 163, pp. 55-59

Whitaker J., Barica J., Buckley H.K., Buckley M. (1987)
Efficacy of copper sulphate in the suppression of Aphanizomenon flos-aquae blooms in prairie lakes
Environ. Pollut., 15, pp. 185-194

Wong S.H., Hindin E. (1982)
Detecting an algal toxin by high-pressure liquid chromatography
Am. Water Works Assoc. J., 74, pp. 528-529

Wurtsbaugh W.A., Horne A.J. (1982)
Effects of copper on Nitrogen Fixation and Growth of Blue-Green Algae in Natural Plankton Associations
Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39, pp. 1636-1641

Zevenboom W., van der Does J., Bruning K., Mur L.R. (1981)
A Non-Heterocystous Mutant of Aphanizomenon flos-aquae, Selected by Competition in Light-Limited Continous Culture
FEMS Microbiol. Lett., 10, pp. 11-16

Zevenboom W., Mur L.Ṙ. (1984)
Growth and photosynthetic response of the cyanobacterum Microcystis aeruginosa in relation to photoperiodicity and irradiance
Arch. Microbiol., 139, pp. 232-239

Zohary T. (1985)
Hyperscums of the cyanobacterium Microcystis aeruginosa in a hypertrophic lake (Hartbeesport Dam, South Africa)
J. Plankton Res., 7(3), pp. 399-409

Herrn Prof. Dr. M. Ruf danke ich sehr herzlich
für seine freundliche Unterstützung bei der
Erstellung und Korrektur dieser Arbeit

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr.
K. Scherb, Herrn K. Reitter und Herrn H.
Bauer für die freundliche Zusammenarbeit

L E B E N S L A U F

Name	:	Georg Kovermann
geboren	:	21.07.1957 in Ottmarsbocholt
Eltern	:	Cäcilia und Wilhelm Kovermann, Kaufmann
Religion	:	römisch-katholisch
Familienstand	:	verheiratet mit Simone Kovermann, geborene Vedder, zwei Kinder
Ausbildung	:	05/63 - 07/68 Grundschule Ottmarsbocholt
		08/68 - 07/77 Gymnasium Canisianum Lüdinghausen - Abitur
		09/77 - 06/79 kaufmännische Lehre bei Firma Stielfabrik H. Kovermann Abschluß: Industriekaufmann
		01/80 - 03/80 Sprachkurs Kings School London
		05/80 TOEFL (Test of English as a foreign language)
		11/80 - 07/86 Studium der Veterinärmedizin
		07/86 Approbation als Tierarzt
		09/86 - 04/88 Dissertation am Institut für Zoologie und Hydrobiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München